
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDE SUR L'IMMUNITÉ VIS-A-VIS DES COMPOSÉS ARSÉNICAUX

TROISIÈME MÉMOIRE

DU RÔLE DES LEUCOCYTES DANS L'IMMUNISATION CONTRE L'ACIDE ARSÉNIEUX SOLUBLE

PAR LE D^r BESREDKA

(Travail du laboratoire de M. E. Metchnikoff.)

L'histoire des arsénicophages de Styrie, parvenant à s'entraîner de façon à ingérer des doses formidables d'arsenic, fit naître l'espoir chez les bactériologistes que l'arsenic serait la substance de choix pour l'étude de l'accoutumance et d'autres problèmes se rattachant à l'immunité.

On s'est bientôt aperçu que cet espoir ne devait pas se réaliser, les animaux de laboratoire s'étant montrés complètement réfractaires à toute tentative de vaccination, si mesurée qu'on la fasse.

Dernièrement M. Brouardel¹ a repris cette question dans une monographie très documentée sur l'arsénicisme. Mettant à profit des nouvelles méthodes d'immunisation contre les toxines, ce savant a expérimenté sur un grand nombre d'animaux, lapins et cobayes, mais sans résultat appréciable. Il lui a semblé que dans quelques cas les cobayes auxquels il faisait ingérer de l'acide arsénieux présentaient une légère accoutumance et finissaient par supporter la dose mortelle; mais, dans tous les autres cas, les animaux traités devenaient plus sensibles et succombaient parfois à des doses inférieures à la dose mortelle.

1. Thèse de Paris, 1897.

Nous avons essayé, à notre tour, différentes méthodes d'immunisation en nous inspirant surtout des connaissances acquises au sujet des toxines.

Malgré le nombre considérable d'animaux soumis aux procédés d'immunisation les plus variés, les résultats obtenus ont été en général peu encourageants. Toutefois, au cours de nos expériences, nous avons eu plusieurs lapins qui ont supporté la dose sûrement mortelle.

Nous sommes parvenus à ce résultat, soit en administrant à des lapins des doses considérables, mais non mortelles, séparées par de longs intervalles, soit en commençant l'immunisation par des doses très faibles (1 milligramme), en les augmentant d'une façon très lente, et en ne pratiquant une nouvelle injection que lorsque l'animal avait repris son poids primitif.

D'une façon ou de l'autre, il fallait des mois entiers pour avoir un lapin sur trois survivant à la dose mortelle minima. C'est certainement un résultat acquis au prix de beaucoup trop de difficultés pour que l'on puisse s'en montrer satisfait.

Ces expériences ont cependant prouvé que le lapin est susceptible de subir l'immunisation, qui reste pénible et faible; en même temps nous avons acquis la conviction que les procédés qui se montrent si efficaces pour les toxines sont sans utilité appréciable dès qu'il s'agit de l'arsenic. Il faut donc abandonner les procédés ordinaires de la vaccination, si on veut obtenir un résultat positif.

I

IMMUNISATION ACTIVE

Si le lecteur veut bien se reporter à notre précédent mémoire, il verra que l'animal neuf, soumis à une dose mortelle d'arsenic¹, réagit en hypoleucocytose qui, suivant la dose, est tantôt remplacée au début par une hyperleucocytose transitoire, tantôt représente la seule manifestation leucocytaire dès le début de la maladie jusqu'aux derniers moments de la vie.

Cette hypoleucocytose, avec les caractères que nous connais-

1. Il s'agit, au cours de tout ce travail, de l'acide arsénieux en solution alcaline comme dans le précédent mémoire.

sons déjà, fait complètement défaut quand la dose du poison n'est pas mortelle pour l'animal.

En présence de ces faits, nous nous sommes demandé si, en supprimant l'hypoleucocytose si funeste pour l'animal, on ne réussirait pas à lui faire supporter impunément une dose pourtant mortelle.

Il s'agissait, en d'autres termes, d'injecter une dose mortelle sans déterminer la chimiotaxie négative, qui, privant l'organisme de ses moyens naturels de défense, exposait ses cellules sensibles, notamment les cellules nerveuses, à l'action immédiate du poison.

L'expérience ainsi conçue se montra d'une exécution très facile. Au lieu d'injecter d'un seul coup, brutalement, la dose mortelle en totalité, divisons-la en quatre doses et injectons-en d'abord un quart. Après une hypoleucocytose de courte durée, vient une hyperleucocytose prononcée avec ses caractères habituels, sur lesquels nous n'insistons pas.

Injectons le deuxième quart ; au moment de cette deuxième injection nous sommes en pleine hyperleucocytose ; les leucocytes qui pullulent dans le sang viennent de subir le contact de l'arsenic, et lors de cette deuxième injection ne s'en montrent nullement ou très peu impressionnés. Au lieu de faire preuve d'une chimiotaxie négative et de fuir dans les organes, ce qu'ils auraient fait en présence d'une dose représentant la somme des deux premiers quarts injectés en une seule fois, ils éprouvent au contraire vis-à-vis de la nouvelle dose une chimiotaxie positive presque aussitôt après l'injection.

Le troisième et le quatrième quarts subissent le même sort, c'est-à-dire sont accueillis, par les leucocytes, par une chimiotaxie de plus en plus appréciable.

De cette façon, en espaçant les doses, on parvient à faire accepter à un lapin une dose d'arsenic qui, injectée en une fois, l'eût sûrement tué en 24 heures ou même plus rapidement ; et ceci parce qu'ayant accoutumé les leucocytes à l'arsenic par la première injection, ceux-ci ne fuient plus devant lui lors d'injections ultérieures ; ils restent dans le sang au cours de l'immunisation en plus ou moins grand nombre, ou le quittent et reviennent le lendemain en masse, pour offrir à l'arsenic une résistance plus efficace en l'empêchant d'aller toucher aux éléments sensibles de l'organisme.

L'expérience montre en effet que le lendemain ou le surlendemain, ainsi que pendant les 4 ou 5 jours suivants, on observe une hyperleucocytose des plus fortes, avec accroissement inusité de la proportion des polynucléaires (jusqu'à 90 0/0 au lieu de 35 0/0).

Si l'expérience est bien conduite, l'animal n'est pas malade, ou bien se rétablit déjà au plus tard le lendemain de l'opération.

En ce qui concerne les moments des inoculations, nous les pratiquons quatre fois dans le courant de la journée : à 9 heures, à midi, à 3 heures et à 6 heures.

On ne peut pas évidemment supposer que si l'animal supporte facilement dans ces conditions la dose mortelle, ce ne soit qu'à la faveur d'une élimination plus rapide du poison : d'abord l'arsenic s'élimine très lentement et on en retrouve encore des traces 40 jours après l'injection ; puis, nous savons que l'arsenic s'élimine principalement par les reins ; or, chez un lapin traité comme nous venons de le décrire, la diurèse est réduite au minimum, et c'est à peine si l'on réussit à recueillir quelques c. c. d'urine les premiers jours qui suivent l'opération.

Voici donc un procédé qui permet d'injecter facilement et sûrement, dans l'espace d'un jour, une dose mortelle, sans qu'il soit nécessaire de recourir à une immunisation aléatoire qui, non seulement, demande des mois de surveillance, mais encore souvent ne se termine pas au gré de l'expérimentateur.

*
* *

Un autre procédé, basé sur le même principe, permet d'introduire une dose d'arsenic supérieure à la dose mortelle¹ ; il suffit que le poison soit injecté en 2 fois, séparées par un intervalle de 15 à 24 heures.

Supposons que, pour tuer en 48 heures un lapin d'un poids déterminé, il faille 10 c. c. de la solution arsénicale.

Injectons-en sous la peau, le soir, 2 c. c., et le lendemain matin ou 24 heures après, injectons en une seule fois, toujours sous la peau, 10 c. c. de la même solution, c'est-à-dire la dose sûrement mortelle. Notre lapin n'en mourra cependant pas.

Ceci semble paradoxal : voici un animal qui, outre la dose

1. Nous désignons ainsi la dose d'acide arsénieux qui tue en 48 heures.

mortelle, reçoit la veille une dose supplémentaire du poison, qui, certes, n'a pas encore eu le temps d'être éliminé; l'animal est donc en possession d'une quantité d'arsenic (12 c. c.) qui tuerait un lapin du même poids non plus en 48 heures, mais en 24 heures ou même plus rapidement; et cependant, il résiste.

Il est clair que si l'animal survit dans ces conditions, c'est précisément grâce à la petite dose (2 c. c.) reçue la veille, celle-ci ayant accoutumé l'animal à l'arsenic et l'ayant préparé à supporter le lendemain une dose sûrement mortelle.

Cette petite dose de la matière toxique joue donc le rôle de la substance préventive préservant l'animal de l'intoxication mortelle. Si nous ajoutons que la cause intime de cette action préventive réside dans la vaccination des leucocytes, nous pourrons en déduire des indications précieuses sur la nature chimique et sur le mode d'action des substances préventives en général.

A l'appui du rôle vaccinant de la petite dose d'arsenic vis-à-vis des leucocytes, nous pouvons apporter l'expérience suivante inspirée par le mémoire de MM. Roux et Borrel.

S'il est vrai que les leucocytes subissent une certaine accoutumance par le fait qu'ils ont été mis en contact la veille avec une petite quantité de poison, s'il est vrai que c'est à la faveur de cette accoutumance que l'animal supporte le lendemain la dose mortelle, les choses doivent se passer autrement si, le lendemain, on pratique l'injection non sous la peau, mais par une autre voie permettant d'éliminer l'intervention des leucocytes.

Les injections intra-cérébrales se trouvent tout indiquées pour cette expérience. Nous en avons déjà parlé dans le précédent mémoire, nous n'y insistons pas. Disons seulement que pour les injections intra-cérébrales la dose minima mortelle, c'est-à-dire, celle qui tue le lapin en 48 heures, représente 1/100 de la dose minima mortelle en injection sous-cutanée.

Cette dose établie, injectons à un lapin une petite quantité d'acide arsénieux (2 c. c.) sous la peau, puis le lendemain une dose mortelle en 48 heures (1/100 de la dose sous-cutanée), mais cette fois, non plus sous la peau, mais directement dans la masse cérébrale.

Les conditions de l'expérience sont donc les mêmes que

précédemment, avec cette différence que cette fois-ci nous avons exclu l'intervention des globules blancs.

Si le rôle des leucocytes est nul, nous devons obtenir dans ce cas aussi une survie. L'expérience montre cependant qu'il n'en est rien : non seulement, il n'y a pas de survie, mais tout au contraire le lapin meurt dans ces conditions plus rapidement (en 24 heures) que le témoin qui reçoit l'injection intracérébrale seule, et dont la mort ne survient qu'en 48 heures.

Il est à peine besoin d'en indiquer la raison : l'injection sous-cutanée et l'injection intra-cérébrale agissent en additionnant leurs effets, tandis que lors de la première expérience, au contraire, l'effet de la dose mortelle du lendemain se trouve amorti, pour ainsi dire, par la petite dose d'arsenic de la veille, — et ceci par le mécanisme que nous avons déjà indiqué.

*
* *

Sont-ce uniquement les phagocytes du sang circulant qui subissent la vaccination dans ce cas, ou bien y a-t-il d'autres éléments phagocytaires qui y prennent part également ? Nous ne pouvons répondre catégoriquement à cette question ; d'un côté, nous ne possédons pas de réaction microchimique pour déceler le poison, et, d'un autre côté, nous ne pouvons pas isoler des phagocytes fixes comme cela a été fait pour les phagocytes mobiles, les leucocytes. Pourtant certains faits nous font croire que les éléments phagocytaires du foie, par exemple, ne sont pas étrangers à l'accoutumance que subit si évidemment le système leucocytaire.

Ainsi, quand on fait supporter à un lapin une dose mortelle d'arsenic dans les conditions indiquées, et qu'on examine en même temps que les globules blancs tous les viscères, on constate que, de tous les organes, c'est le foie qui contient proportionnellement la plus grande quantité de poison.

C'est ce qui ressort de l'expérience suivante : après avoir injecté une dose mortelle (par le procédé indiqué plus haut), faisons reposer l'animal pendant un certain temps (8 à 15 jours), puis reprenons l'expérience : si huit jours après l'injection de la deuxième dose mortelle on sacrifie l'animal, on est étonné de la quantité d'arsenic que contient le foie en comparaison avec d'autres organes.

Il y a donc probablement dans le foie des cellules qui subissent aussi l'accoutumance, laquelle se traduit par la propriété qu'elles acquièrent d'emmagasiner des quantités de plus en plus considérables du poison.

*
* *

Ainsi nous avons à notre disposition deux procédés d'immunisation active. Dans l'un comme dans l'autre, les phénomènes leucocytaires se traduisent par une hyperleucocytose polynucléaire, comme il a été déjà indiqué dans le précédent mémoire. Remarquons que dans le second procédé (petite dose la veille, puis dose mortelle le lendemain), vu la dose considérable de l'arsenic, le stade initial de l'hypoleucocytose ainsi que celui de l'hyperleucocytose sont beaucoup plus accentués, à la fois au point de vue de la durée et de l'intensité des réactions leucocytaires.

*
* *

On pourra nous dire que nos procédés d'immunisation sont encore très imparfaits, puisqu'ils ne permettent d'employer que des doses simplement mortelles ou des doses les dépassant très peu, tandis que par les procédés bactériologiques on peut immuniser contre des doses 100, 1,000 fois mortelles et plus.

A ceci nous pouvons répondre que cette comparaison n'est guère possible, car il s'agit là de substances toxiques d'ordre un peu différent et par conséquent non comparables.

Expliquons-nous. Nous avons appelé dose minima mortelle celle qui tue en 48 heures ; si nous l'augmentons d'un cinquième seulement, c'est-à-dire, si au lieu d'injecter une unité¹ du poison, nous en injectons $6/5$, l'animal meurt en 24 heures ou même plus rapidement. Il suffit d'augmenter un peu la dose et d'injecter par exemple $7/5$ ou $8/5$ de la dose initiale, pour que le lapin meure déjà au bout de 12-10 heures. Si nous doublons la dose, la mort surviendra en 2-3 heures.

Il ressort donc que les termes, — dose une fois, deux fois mortelle, — n'ont pas la même signification à l'égard de l'acide arsénieux ou de la toxine diphtérique, par exemple, dont on

1. On peut naturellement tuer un lapin en plus de 48 heures, en quelques jours ; mais ces doses étant difficiles à régler d'avance, nous avons pris pour l'unité celle qui tue en 48 heures, dose facile à déterminer avec beaucoup d'exactitude.

peut injecter une dose 2 fois, 10 fois et 100 fois mortelle sans que la mort soit pour cela sensiblement accélérée : avec la dose 100 fois mortelle de toxine diphthérique ou tétanique, on ne peut pas tuer un lapin en moins de 24 heures.

On ne peut donc pas appliquer à l'acide arsénieux le langage courant pour les toxines microbiennes, car la dose d'arsenic deux fois mortelle est déjà une dose presque foudroyante.

Voilà pourquoi nous aimons mieux employer les termes : dose mortelle en 48 heures, en 24 heures, etc., parce qu'ils traduisent le véritable effet toxique ; voilà aussi pourquoi on ne doit pas s'étonner que nos procédés d'immunisation active semblent conférer à des animaux une immunité relativement faible.

II

IMMUNISATION PASSIVE

Les deux procédés d'immunisation que nous avons exposés plus haut peuvent être combinés en un seul ; on confère de la sorte à l'animal une immunité plus assurée vis-à-vis de la dose mortelle en 48 heures.

Dans la pratique, nous procédons de la façon suivante : si nous désirons injecter à un lapin en tout 15 c. c. de la solution arsénicale (cette dose étant supérieure à la dose minima mortelle), nous lui injectons la veille au soir 3 c. c., puis le lendemain le reste en 4 fois à des intervalles réguliers, comme il a été indiqué plus haut.

Si, 6 ou 8 jours après cette opération, on examine le sérum d'un lapin ainsi préparé, on constate que ce sérum a acquis des propriétés nouvelles.

Tandis que le sérum des lapins neufs n'influe aucunement sur la marche de l'intoxication arsénicale produite chez un autre lapin, que ce sérum soit injecté la veille ou en même temps que le poison, et quelle que soit la quantité injectée, le sérum des lapins immunisés révèle à la fois des propriétés antitoxiques et préventives vis-à-vis de l'acide arsénieux en solution.

De nombreuses expériences ont montré qu'avec 8 c. c. du

sérum des lapins immunisés on peut préserver un lapin neuf contre la dose sûrement mortelle en 48 heures, et ceci que l'acide arsénieux soit injecté en même temps que le sérum, ou qu'il ne soit injecté que 24 heures après le sérum.

Dans ce dernier cas une dose de sérum même moindre — 5 à 6 c. c. — suffit pour obtenir un effet préventif.

Afin de mettre en évidence la propriété antitoxique du sérum, on peut à volonté, ou mélanger le sérum et le poison *in vitro*, et injecter le tout en un point, ou bien injecter séparément le sérum et la solution arsénicale en différents côtés du corps du lapin.

Cette propriété du sérum, apparaissant parfois après une première injection, devient surtout manifeste lorsque le lapin a reçu deux fois la dose mortelle dans les conditions indiquées, à 8-10 jours d'intervalle.

Il est de toute nécessité de s'adresser à des lapins vigoureux, bien nourris, car souvent après la première épreuve ils maigrissent et se prêtent mal à une seconde immunisation; il en résulte un sérum peu efficace qui ne confère qu'une survie passagère, durant de 3 à 15 jours¹.

Il est utile aussi d'être prévenu contre la sensibilité spéciale que présentent certains lapins vis-à-vis de l'arsenic; ainsi on rencontre, surtout en hiver, des lapins qui succombent à une dose d'arsenic inférieure à la dose minima mortelle; on constate souvent dans ce cas la coccidiose du foie.

Il est à remarquer que ces lapins sensibles se montrent généralement réfractaires à l'action du sérum antiarsénieux, et qu'eux-mêmes, immunisés par des doses fractionnées, fournissent un sérum peu actif ou bien dénué de toute propriété spécifique. Cette sensibilité particulière serait peut-être due à la facilité avec laquelle les animaux arsénisés contractent des infections secondaires. Comme M. Wurtz, nous avons constaté aussi très souvent la présence des microbes dans le sang des animaux morts par l'arsenic. Cette infection secondaire n'étant pas toujours nécessairement mortelle, on comprend jusqu'à un certain point ce fait étrange au premier abord, que parmi les lapins soumis à l'immunisation on en trouve dont le sérum reste inactif.

1. Nous avons remarqué qu'en été les lapins supportent beaucoup mieux l'arsenic qu'en hiver, et qu'en même temps le sérum qu'ils fournissent en été est beaucoup plus actif qu'en hiver; nous pensons que la nourriture n'y est pas étrangère, sans parler de l'influence de la température.

*
* *

En présence d'un sérum antitoxique préparé avec une toxine aussi connue que l'acide arsénieux, la première question qui se pose c'est de savoir si ce sérum contient de l'arsenic ou n'en contient pas ; en d'autres termes si, dans notre cas, l'antitoxine est fabriquée aux dépens de la toxine ou en est tout à fait indépendante.

A la suite de nombreuses analyses de sérums pratiquées par le procédé de M. Ogier¹, nous sommes porté à croire que l'anti-arsénine est une substance non arsénicale.

Cette conclusion semble d'abord en contradiction avec les faits fournis par l'analyse ; en effet, dans la grande majorité des échantillons des sérums, nous constatons la présence de l'arsenic, et à tel point que nous avons été d'abord fort tenté d'établir une relation de cause à effet entre la présence de l'arsenic dans le sérum et son pouvoir antitoxique ; d'autant plus que chez les lapins ayant reçu une dose considérable, mais non mortelle, par le procédé ordinaire, c'est-à-dire, en une seule fois, on ne trouve point d'arsenic dans le sérum, et celui-ci, comme on le sait, ne possède aucune propriété spécifique.

Mais réflexion faite, cette relation entre la présence de l'arsenic dans le sérum et le pouvoir antitoxique de celui-ci ne nous semble pas être réelle, et voici pourquoi.

Nous avons dit plus haut que 8 c. c. de sérum antiarsénieux suffisent généralement pour préserver l'animal contre la dose mortelle, qui représente 10 milligr. environ d'arsenic métallique. La quantité de sérum que nous soumettions à l'analyse variait entre 25 et 30 c. c., et représentait par conséquent une dose trois fois supérieure à celle qui suffit pour manifester un effet antitoxique. Et cependant la quantité d'arsenic contenue dans ces 25 à 30 c. c. de sérum se traduisait par un anneau non dosable d'arsenic. D'où il faut conclure que l'antitoxine est formée aux dépens d'une quantité infinitésimale de toxine, surtout si on tient compte de la masse de cette dernière nécessaire pour faire naître l'antitoxine. Cette disproportion énorme entre la richesse en arsenic de la toxine et de l'antitoxine nous semble plaider contre la nature antitoxique de l'arsenic contenu dans le sérum.

1. Voir notre deuxième mémoire, ces *Annales*, mars 1899.

Cette hypothèse peut être corroborée par ce fait, fourni par l'analyse, que l'épaisseur de l'anneau obtenu dans différents cas n'était pas en raison directe de l'efficacité du sérum.

Enfin, et c'est là l'argument qui a pour nous le plus de valeur, c'est que dans deux échantillons de sérum sûrement antitoxique nous n'avons pas trouvé la moindre trace d'arsenic.

En nous appuyant sur tous ces faits, nous pensons que le sérum peut être antitoxique sans pour cela contenir nécessairement de l'arsenic; en d'autres termes, que l'antiarsénine n'est pas formée aux dépens de la toxine.

*
* *

Qu'est donc l'arsenic que l'on trouve presque constamment dans le sérum spécifique, et que l'on peut y déceler même plus de trois semaines après l'injection ?

Il est à peine nécessaire d'ajouter que l'on n'en a jamais trouvé dans le sérum d'animaux ayant reçu une, ou même plusieurs injections d'arsenic faites en une fois.

D'après nous, cet arsenic apparaissant dans le sérum spécifique, dans des conditions d'immunisation particulières, provient des globules blancs dont le contenu passe dans le sérum après la formation du caillot.

Déjà, par nos recherches antérieures, nous savons que, lors de l'immunisation par des doses fractionnées, les leucocytes absorbent une certaine quantité d'arsenic dont la présence peut facilement être constatée 5 à 6 jours après l'injection; c'est aussi à cette époque que nous recueillons le sérum; il est donc fort probable que l'arsenic que nous constatons dans le sérum soit le même que nous avons constaté précédemment dans la couche leucocytaire.

Cet arsenic du sérum présente une particularité intéressante sur laquelle nous désirons insister, et qui plaide aussi en faveur de sa provenance leucocytaire.

Graham, dans ses recherches sur la dialyse, a montré que l'acide arsénieux mélangé à différents organes et en particulier au sang peut en être séparé par le dialyseur; l'acide arsénieux, même au bout d'un séjour prolongé dans la masse sanguine,

1. Dans un cas nous avons trouvé un anneau très net d'arsenic dans 22 c. c. du sérum recueilli 25 jours après l'injection; ce sérum avait un pouvoir antitoxique faible.

ne contracte donc pas avec celle-ci de combinaisons telles qu'il cesse d'être dialysable à travers le parchemin.

Nous avons répété cette expérience avec du sérum sanguin, additionné d'acide arsénieux et soumis à la dialyse ; nous avons retrouvé 24 heures après presque toute la quantité d'arsenic dans le vase extérieur du dialyseur.

Tel n'est pas le cas de l'arsenic que nous trouvons dans le sérum spécifique ; on a beau le soumettre à la dialyse pendant 24 ou 48 heures, il ne franchit point la membrane animale.

Il faut donc conclure que cet arsenic dans le sérum y arrive déjà sous forme d'une combinaison non dialysable, et la constatation de l'arsenic dans la couche leucocytaire nous fait admettre que c'est pendant son séjour dans l'intérieur des leucocytes que l'arsenic entre dans cette combinaison.

*
* *

L'existence d'un sérum antiarsénieux ne présente évidemment d'intérêt qu'en tant que celui-ci permet de pénétrer plus profondément dans la compréhension de l'immunité. Tout en laissant de côté pour le moment les nombreuses questions que soulève ce sérum au point de vue de sa composition et de sa provenance, questions qui feront l'objet de nos études ultérieures, nous désirons tirer seulement quelques conclusions du fait seul de son existence.

On a beaucoup discuté sur la question de savoir comment agissent les antitoxines. Est-ce en neutralisant simplement les toxines, ou bien est-ce en renforçant les ressources naturelles de l'organisme, que les antitoxines rendent celui-ci plus apte à lutter contre les toxines ?

Les deux hypothèses ont été soutenues sans que l'on pût apporter à l'appui des preuves entraînant la conviction, et cela parce que la nature des toxines aussi bien que celle des antitoxines est aussi mystérieuse que l'est leur mode d'action.

Avec l'anti-arsénine, il nous est permis, croyons-nous, de faire un pas en avant. Si nous appliquons à l'anti arsénine les deux hypothèses qui viennent d'être formulées, il est clair que la seconde paraîtra comme la plus probable.

Déjà ce fait qu'en mélangeant *in vitro* la solution d'acide

arsénieux avec le sérum antitoxique, nous ne constatons aucun phénomène ni chimique ni physique, ne nous permet pas d'admettre qu'il s'est produit là une combinaison arsénicale nouvelle dans le sens de la première hypothèse.

De plus, une considération d'un autre genre rend cette hypothèse encore moins probable. Si l'action de l'anti arsénine contenue dans 8 c. c. du sérum se bornait à une neutralisation pure et simple de l'acide arsénieux, c'est-à-dire, si l'antiarsénine agissait en formant avec l'acide arsénieux une combinaison non toxique, il faudrait en conclure qu'en doublant la quantité du sérum, on pourrait préserver l'animal contre une dose deux fois mortelle d'acide arsénieux ; or, la mort rapide de l'animal soumis à cette dose et même à une dose inférieure fournit un démenti à cette hypothèse.

Dans le même ordre d'idées, l'animal fournisseur de l'antitoxine devrait supporter des doses plusieurs fois mortelles d'arsenic, si en réalité il s'agissait seulement de la neutralisation de ce dernier par l'anti arsénine ; et cependant l'expérience montre qu'un lapin dont le sérum est antitoxique (8 c. c. contre une dose mortelle) supporte à peine une dose simplement mortelle (et ceci, pensons-nous, à la faveur de son immunisation active), bien qu'il charrie dans ses vaisseaux une quantité d'antiarsénine capable de conférer une immunité passive contre une dose minime, mais sûrement mortelle, à toute une série de lapins.

Mais peut-être, pourra-t-on objecter, l'anti arsénine exerce-t-elle son effet sans produire une neutralisation complète de la dose mortelle d'arsenic ; en la supposant capable de neutraliser seulement une partie de la dose mortelle, on obtiendrait la survie, l'acide arsénieux libre étant réduit à la dose non dangereuse pour la vie de l'animal. Cette hypothèse aurait ceci de séduisant qu'elle expliquerait pourquoi, en doublant la dose de sérum, on ne peut pas préserver l'animal contre une dose deux fois mortelle ; en effet, dans l'hypothèse que l'antiarsénine sature un cinquième, par exemple, de la dose mortelle, on comprendrait bien la survie en cas d'une dose simplement mortelle, qui par ce fait serait réduite à la dose ($\frac{4}{5}$ de la dose mortelle) facilement supportable par l'animal. Mais lorsqu'on double la quantité du sérum, celui-ci ne peut neutraliser, en cas de la dose deux fois

mortelle, que $2/5$ de la dose minima mortelle; il en reste $8/5$ qui naturellement doivent tuer le lapin très rapidement.

Mais si cette interprétation était vraie, un lapin activement immunisé, vu la quantité du sérum qu'il possède, aurait dû supporter au moins une dose un peu supérieure à la mortelle, ce qui en réalité n'a pas lieu.

De tout ceci ressort l'impossibilité d'admettre l'hypothèse de la neutralisation de l'arsenic par l'antiarsénine; par contre, les faits cités trouvent leur justification dans la supposition que l'anti-corps en question agit sur l'organisme animal en l'excitant à se défendre plus activement contre la toxine. Ajoutons toutefois qu'il n'est pas dans notre pensée d'identifier *a priori* l'antiarsénine avec d'autres antitoxines connues, et d'étendre à ces dernières, en ce qui concerne leur action sur les toxines, les considérations qui viennent d'être exposées.

* *

Nous pouvons pousser plus loin l'analyse et nous demander maintenant quels sont les moyens de défense que l'organisme met en jeu dans ce cas. Lorsqu'on étudie les phénomènes leucocytaires chez l'animal passivement immunisé, on se rend facilement compte que les leucocytes y jouent un rôle très actif: déjà, dès le lendemain de l'opération, s'établit une hyperleucocytose de plus en plus accentuée; sans entrer dans les détails, disons qu'au point de vue leucocytaire, chez les animaux passivement immunisés, on observe exactement les mêmes phénomènes que nous avons signalés au cours de l'immunisation active.

On peut faire ressortir le rôle des leucocytes dans l'immunité passive par l'expérience suivante, analogue à celle que nous avons déjà réalisée à propos de l'immunité active.

Injectons préventivement à deux lapins, sous la peau, des quantités suffisantes de sérum antiarsénieux ¹, et le lendemain injectons à chacun d'eux une dose d'acide arsénieux tuant en 48 heures seulement, de sorte qu'un de ces lapins la reçoive sous la peau, l'autre une dose correspondante ($1/100$ de la dose sous-cutanée) dans le cerveau. Deux témoins reçoivent les mêmes quantités d'arsenic — un sous la peau, l'autre dans le cerveau.

1. Nous injectons le sérum préventivement pour que son effet soit plus sûr.

De tous ces lapins il n'y a qu'un qui survit; c'est celui des deux immunisés qui a reçu de l'acide arsénieux sous la peau; l'autre lapin, immunisé aussi, mais inoculé dans la substance cérébrale, ainsi que les deux témoins, meurent 50 à 60 heures après l'opération.

L'interprétation de cette expérience est bien simple si on tient compte du rôle des leucocytes dans l'immunisation passive. En effet, en inoculant le lapin dans le cerveau, nous éliminons l'intervention du système leucocytaire, et comme notre sérum préventif agit précisément sur ce système, nous privons par conséquent l'animal de tout le bénéfice qu'il pourrait retirer du sérum; il se trouve donc placé dans les mêmes conditions, bien qu'immunisé, que son témoin non immunisé.

Cette expérience vient par conséquent confirmer notre hypothèse que le sérum antiarsénieux agit surtout sur et par l'appareil leucocytaire.

*
* *

Conclusions :

On peut immuniser les lapins contre la dose sûrement mortelle d'acide arsénieux soluble en y accoutumant les leucocytes.

On y parvient tantôt en fractionnant la dose mortelle dans le courant de la journée, ou bien en injectant préventivement une petite dose du poison, et 24 heures après une dose mortelle.

Ces deux procédés peuvent être combinés en un seul.

Le sérum des animaux immunisés, soit par le procédé combiné, soit par celui des doses fractionnées seul, possède des propriétés à la fois préventives et antitoxiques contre une dose d'acide arsénieux tuant en 48 heures.

L'antiarsénine est, selon toute probabilité, un composé non arsénical.

L'arsenic qui accompagne l'antiarsénine n'est pas dialysable et est de provenance cellulaire.

L'hypothèse de l'action neutralisante de l'antiarsénine, totale ou partielle, est en opposition avec les faits.

L'antiarsénine agit sur la toxine par l'intermédiaire du système leucocytaire; la suppression de ce dernier paralyse l'action de l'antiarsénine.

Contribution à la pathogénie de l'appendicite.

(Étude de la virulence du coli-bacille dans l'appendicite expérimentale.)

PAR CHARLES DE KLECKI

Professeur de pathologie générale et expérimentale à l'Université de Cracovie.

Malgré les nombreuses recherches sur l'appendicite et les fréquentes discussions sur cette affection dans les sociétés médicales de tous les pays, la pathologie de l'appendice cæcal renferme toujours beaucoup de questions qui ne sont pas encore résolues.

Il est bien établi que, dans l'appendicite non spécifique, il se produit une infection locale de l'appendice cæcal par les saprophytes intestinaux, et que dans la majorité des cas cette infection est mixte. Mais on ne sait pas encore quel rôle jouent dans cette poly-infection les différents microbes intestinaux, ni quels sont les agents principaux de l'infection appendiculaire.

Dans les produits pathologiques de l'appendicite, on rencontre le plus constamment, quelquefois en culture pure, le coli-bacille, (Adenot¹, Poncet et Jaboulay², Talamon³, Tavel et Lanz⁴, Kirmisson⁵, Fowler [Erik Wilson⁶], Obrastzow⁷, Hodenpyl⁸) ; pour la plupart des auteurs il joue dans la pathogénie de cette affection un rôle important. D'après MM. Monod⁹, Dieulafoy¹⁰, Kümmel¹¹, Achard et Broca¹², les agents habituels de l'appendicite non spécifique sont le coli-bacille et le streptocoque. Pour

1. ADENOT, *Soc. de biol.*, 1891.

2. PONCET et JABOULAY, *Revue de méd.*, 1892, n° 17.

3. TALAMON, Appendicite et pérityphlite, Paris, 1892.

4. TAVEL et LANZ, Über die Aetiologie der Peritonitis, *Mittheil. aus kliniken u. med. Inst. d. Schweiz*, I, Basel, 1893.

5. KIRMISSON, *Soc. de Chirurgie*, séance du 16 septembre 1895.

6. FOWLER (Erik Wilson), *Über Appendicitis*, Berlin, 1895.

7. OBRASTZOW, Typhlite catarrhale aiguë, *La Méd. moderne*, 1896, n° 30.

8. HODENPYL, cité par LEGUEU. De l'Appendicite, Paris, 1897.

9. MONOD, *Soc. de Chirurgie*, séance du 16 octobre 1895.

10. DIEULAFOY, *Bull. de l'Académie de méd.*, 1896, n° 10.

11. KUMMEL, *Über Perityphlitis*, Leipzig, 1896.

12. ACHARD ET BROCA, *Soc. méd. des Hôpitaux*, séance du 26 mars 1897.

M. Macaigne¹, le streptocoque est l'agent principal de la lésion. M. Welch² a trouvé dans un cas d'appendicite dans l'épanchement péritonéal le streptocoque en culture pure. Parmi les autres microbes, qui contribuent à la poly-infection de l'appendice, on cite le staphylocoque doré, des diplocoques, le bacille pyogène fétide, le bacille pyocyannique, le *micrococcus flavus liquefaciens*, le *proteus vulgaris*, le *bacillus subtilis* et quelques autres espèces microbiennes non déterminées, qui présentent une certaine ressemblance avec le bacille de Löffler, le pneumocoque, le bacille du tétanos et celui de la morve.

Dans l'appendicite expérimentale du lapin, MM. Roger et Josué³ ont constaté les mêmes espèces microbiennes qu'on trouve dans l'appendice normal ; dans une expérience, le pus appendiculaire ne renfermait que le coli-bacille en culture pure.

D'après les recherches récentes de MM. Veillon et Zuber⁴, les agents principaux de l'appendicite non spécifique sont des microbes anaérobies, dont les auteurs citent le *bac. fragilis*, *bac. ramosus*, *bac. perfringens*, *bac. fusiformis*, *bac. furcosus* et le *staphylococcus parvulus*. MM. Veillon et Zuber ont constaté dans 22 cas d'appendicite la virulence de ces microbes pour le cobaye et le lapin, et surtout leur prédominance sur le coli-bacille et les autres aérobies, quelquefois même leur existence exclusive dans le pus appendiculaire.

On voit donc qu'il règne encore parmi les auteurs un désaccord prononcé sur un point capital de l'étiologie de l'appendicite non spécifique.

La pathogénie de cette affection n'est pas mieux connue que son étiologie.

L'appendicite non spécifique résultant d'une infection par les microbes habituels de l'appendice, on peut admettre que, pour que l'affection éclate, il faut que les microbes exaltent leur virulence, ou que la paroi appendiculaire soit rendue accessible à l'action des saprophytes. Dans les deux cas, l'infection serait donc un procès secondaire, dû à une altération antérieure du microbe ou de l'appendice même. Les microbes

1. MACAIGNE, cité par MONOD.

2. WELCH, cité par TALAMON.

3. ROGER et JOSUÉ, Recherches expérimentales sur l'appendicite, *Revue de méd.* 1896 et *Soc. méd. des Hôpitaux*, séance du 31 janvier 1896.

4. VEILLON et ZUBER, Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie, *Arch. de méd. expér. et d'anat. path.*, 1898, n° 4.

exaltent-ils leur virulence dans l'appendicite, quelles sont les conditions pathologiques qui entraînent cette altération? Une appendicite peut-elle éclater sans exaltation de la virulence des microbes. Voilà des questions de premier ordre qui s'imposent à l'étude de l'appendicite, des questions qui sont encore loin d'être résolues.

Généralement les auteurs ont attribué un rôle prédominant, quelquefois même exclusif, à une seule condition ou à un seul des agents pathologiques, qui sont ici aussi nombreux et aussi compliqués que dans la plupart des autres affections.

C'est ainsi qu'on a établi les différentes théories de l'appendicite. Je ne veux pas entrer dans les détails de ces théories, si bien exposées dans les monographies sur l'appendicite de date récente, comme celles de MM. Fowler, Legueu, Monod et Vanverts¹, et dans un court résumé de M. Schmidt², et je me bornerai à citer la théorie de la colique appendiculaire par corps étranger (ou calcul stercoral) de M. Talamon; la théorie de l'appendicite par stagnation du contenu appendiculaire (Reclus³), provoquée par une affection catarrhale chronique du gros intestin (Aufrecht⁴, Iversen, Kümmel, Foges⁵), spécialement par une entérite muco-membraneuse (Reclus⁶, Mathieu et Le Gendre⁷); la théorie de l'appendicite par catarrhe lithogène (Mathieu⁸); la théorie par altérations régressives de l'appendice cæcal (Poirier⁹), et la théorie mécanique (Roux¹⁰, Porter¹¹, Poirier¹²). On a aussi décrit une appendicite non spécifique épidémique (Goluboff¹³) qu'on attribue à une cause générale.

Enfin, la théorie la plus récente de l'appendicite de cause

1. MONOD et VANVERTS, L'appendicite. *Encyclopédie scientifique des aide-mémoire*, Paris.

2. SCHMIDT, Neuere Anschauungen über die Actiologie der Perityphl. *Centralbl. f. d. Grenzgebiete d. Méd. u. Chirurgie*, 1898, n° 11.

3. RECLUS, *Soc. de Chirurgie*, séances des 9 et 23 décembre 1896.

4. AUFRECHT, Zur Pathologie und Therapie d. Perityphlitis, *Therap. Monatshefte*, 1895 n° 5.

5. FOGES, Über Appendicitis. *Soc. méd. de Vienne*, séance du 6 mars 1896.

6. RECLUS, cité par SCHMIDT.

7. MATHIEU et LE GENDRE, *Soc. méd. des Hôpitaux*, séance du 29 janvier 1897.

8. MATHIEU, *Soc. méd. des Hôpitaux*, séance du 28 février 1896.

9. POIRIER, cité par RECLUS.

10. ROUX, cité par LEGUEU, *Revue méd. de la Suisse romande*, avril 1890.

11. PORTER cité par LEGUEU, *Boston méd. and. Surgery Journal*, 1891, n° 14.

12. POIRIER, *Soc. de Chirurgie*, séance du 16 décembre 1896.

13. GOLUBOFF, Appendicite, maladie infectieuse, *Medicina*, 1896, n° 12.

locale est la théorie « de la cavité close » de M. Dieulafoy. D'après M. Dieulafoy, l'appendicite est toujours le résultat de la transformation du canal appendiculaire en une cavité close. Cette transformation peut se faire par différents mécanismes : par oblitération du canal appendiculaire par un calcul stercoral, par tuméfaction de la muqueuse résultant d'une infection locale, quelquefois par rétrécissement fibreux, lent et progressif. Une fois le canal appendiculaire transformé en cavité close, n'importe par quel mécanisme, les microbes normaux de l'appendice, jusque-là inoffensifs, pullulent et exaltent leur virulence. Dans une théorie antérieure, M. Talamon attribuait aussi une certaine importance à la transformation de la cavité appendiculaire en un « vase clos » ; M. Dieulafoy en fit le point essentiel de sa théorie.

La théorie de l'appendicite par cavité close est fondée pour une part sur les recherches cliniques et anatomiques de M. Dieulafoy ; pour une autre, notamment en ce qui concerne la pullulation et l'exaltation de la virulence des microbes en cause, elle s'appuie sur les résultats d'une étude sur la pathogénie de la péritonite d'origine intestinale, que j'ai publiée dans ces *Annales*¹ en 1895. Dans cette étude, j'ai trouvé que les microbes renfermés dans une anse intestinale étranglée et non perforée pullulent, et que le coli-bacille, dont le rôle pathogène était l'objet spécial de mes recherches, exalte sa virulence encore à l'intérieur de l'anse étranglée, avant son passage à travers la paroi intestinale dans la cavité péritonéale. J'ai obtenu ce résultat dans 8 expériences, où l'étranglement d'une anse intestinale avait produit une stase veineuse et des altérations inflammatoires de la paroi. Pour étudier les variations de la virulence du coli-bacille dans ces conditions, j'avais appliqué la méthode comparative, qui seule d'après mon avis fournit des résultats exacts ; c'est pourquoi il a fallu immobiliser le contenu de l'anse étranglée, en autres termes transformer la cavité de cette anse en une cavité close. M. Dieulafoy, trouvant une analogie entre ces expériences et ce qui passe en conditions pathologiques dans l'appendice cæcal, appliqua leur résultat à la pathogénie de l'appendicite.

1. DE KLECKI, Recherches sur la pathogénie de la péritonite d'origine intestinale. Étude de la virulence du coli-bacille. *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1895.

*
* *

L'exaltation de la virulence d'un microbe résulte de la somme d'influences biologiques exercées sur le microbe, et de ses réactions réciproques. Il est évident que dans la cavité intestinale ces agents, encore peu étudiés, sont très nombreux et très compliqués. J'ai essayé de montrer pour le coli-bacille une de ces influences, notamment celle qui dépend des conditions symbiotiques du microbe. Il est fort probable que d'autres saprophytes intestinaux peuvent aussi, de même que le coli-bacille, exalter leur virulence; mais cette hypothèse, très justifiée, manque encore d'une démonstration expérimentale.

Si on envisage les altérations que subit la constitution chimique et morphologique du contenu d'une anse étranglée, on est conduit à la conclusion que le changement des propriétés vitales des microbes qu'elle renferme est en rapport avec les altérations de leur milieu extérieur.

Il est vrai que seule l'occlusion mécanique d'une anse intestinale peut entraîner quelques altérations de son contenu, notamment celles qui résultent de l'action irritante des masses stagnantes sur la paroi intestinale, et celles qui résultent de la résorption inégale de différents éléments du contenu intestinal. Dans les stades avancés de la maladie, l'occlusion intestinale peut même contribuer, par accumulation du contenu de l'anse pathologique et par distension de sa paroi, aux altérations de la circulation sanguine dans cette anse, et à celles de son contenu qui en sont la conséquence. Mais dans une anse étranglée les altérations du contenu, provoquées par l'occlusion mécanique, passent au second plan vis-à-vis des altérations résultant de la lésion histologique de la paroi intestinale, dont les produits pathologiques se mélangent aux éléments du contenu de l'anse étranglée et changent sa constitution d'une façon très prononcée.

Dans mon étude antérieure, citée plus haut, l'étranglement d'une anse intestinale n'entraînait pas dans tous les cas une exaltation de la virulence du coli-bacille. Sur 10 expériences, où l'anse étranglée fut transformée en une cavité close, j'ai constaté une exaltation de la virulence du coli-bacille 8 fois; c'étaient les expériences « caractérisées par la stase veineuse et en même temps par un état inflammatoire de la paroi de l'anse étranglée ».

Dans les 2 autres expériences « où on avait produit une anémie de la paroi de l'anse étranglée », la virulence du coli-bacille n'était pas exaltée; dans une de ces expériences, elle était même un peu inférieure à celle du microbe retiré de la même anse à l'état normal.

Les altérations du contenu intestinal, résultant de la lésion de la paroi, sont trop compliquées pour qu'on puisse affirmer, en s'appuyant sur ces expériences, qu'une stase veineuse d'une anse intestinale entraîne toujours une exaltation de la virulence du coli-bacille renfermé dans son contenu, et que cette altération du microbe ne se produise jamais dans une anse anémique. Néanmoins, je pense qu'il ressort de ces expériences un certain rapport entre les propriétés vitales du coli-bacille et la lésion histologique de l'anse étranglée, notamment celle qui est due à l'altération de la circulation sanguine. Il me paraît parfaitement admissible que les altérations chimiques et morphologiques du milieu extérieur des microbes, provoquées par la lésion histologique, influencent la flore intestinale non seulement en favorisant le développement de quelques espèces microbiennes, et en supprimant d'autres, mais qu'elles influencent aussi directement les propriétés vitales, et par conséquent la virulence des microbes. La stagnation des masses fécales, transformées par les produits de la lésion histologique, contribue peut-être aussi par accumulation des sécrétions bactériennes à une altération des influences réciproques des microbes.

En poursuivant ces idées, j'ai cru pouvoir les appliquer à l'étude de la pathogénie de l'appendicite.

Dans les recherches présentes, j'ai étudié la virulence du coli-bacille dans l'appendicite expérimentale du lapin.

Les expériences ont été exécutées en 1897; je ne publiai pas leur résultat, attendant que les observations cliniques, si nombreuses et si détaillées dans ces derniers temps, éclairent de leur côté la pathogénie de l'appendicite.

A présent que les recherches de MM. Veillon et Zuber tendent à éliminer le rôle des aérobies de l'étiologie de cette affection, je présente mes observations sur la virulence du coli-bacille dans l'appendicite expérimentale.

En regardant le coli-bacille comme un des agents pathogènes de l'appendicite non spécifique, je me suis demandé si l'occlu-

sion de la cavité appendiculaire est une condition indispensable pour l'exaltation de la virulence de ce microbe ; j'ai tâché de me rendre compte, si cette altération du microbe ne dépend pas plutôt de la lésion histologique de la paroi appendiculaire. Pour l'étude expérimentale, la question se présentait donc de la façon suivante : est-il possible d'exalter la virulence du coli-bacille dans un appendice cæcal, dont la cavité reste ouverte, et dans quelles conditions est-ce possible ? Est-il possible que le microbe n'exalte pas sa virulence, malgré une occlusion du canal appendiculaire ? Enfin, l'importance de l'occlusion appendiculaire dans la pathogénie de l'appendicite étant confirmée par les expériences de MM. Roger et Josué, qui ont trouvé que le seul procédé expérimental pour provoquer chez le lapin une appendicite est la ligature complète de l'appendice, je me suis demandé si une appendicite suppurée ne peut éclater chez cet animal sans occlusion de la cavité appendiculaire.

En partant des idées exposées plus haut, surtout du fait qu'il existe un certain rapport entre la virulence du coli-bacille et la lésion histologique de la paroi intestinale dont la circulation sanguine est altérée, j'ai exécuté 13 expériences de la façon suivante :

Je retirais par un tube effilé, de la cavité appendiculaire d'un lapin sain, chloralisé, un peu de contenu que j'ensemenciais en bouillon de bœuf et en gélatine qu'on coulait en plaques ; j'en isolais ensuite une variété type du coli-bacille, dont la virulence était déterminée. Ayant fermé par un point de suture la petite plaie provenant de la piqûre, je plaçais le mésappendice entre deux bandes en caoutchouc, fixées par des sutures, traversant les deux bandes et le mésappendice entre les vaisseaux à direction perpendiculaire à l'axe longitudinale de l'appendice. En serrant et resserrant les nœuds de ces sutures, on exerçait une pression voulue sur les vaisseaux. Quelquefois on ajoutait à ce procédé une ligature complémentaire de quelques vaisseaux artériels ou veineux de l'appendice ; le plus souvent je faisais la ligature de la grande veine marginale de l'appendice.

Après, suivant l'expérience, on procédait de deux façons : dans une série d'expériences on fermait la cavité appendiculaire par une ligature en caoutchouc, dans une autre on la

laissait ouverte. Les vivisections ont été faites d'une façon strictement aseptique.

Il est vrai que ce n'est pas toujours qu'on obtient par ce procédé l'altération voulue de la circulation sanguine dans la paroi appendiculaire. Les adhérences péritonéales qui sont ici la règle modifient souvent le résultat visé de l'expérience, en ajoutant par leur rétraction à la compression artificielle des vaisseaux une compression naturelle. Il faut tenir compte de ce fait, surtout si on veut provoquer une altération relativement légère, par exemple une hyperémie veineuse de moyenne intensité, sans foyers nécrotiques. Cependant on parvient toujours, dans une série d'expériences, à provoquer la prédominance de l'altération voulue.

Dans la majorité des expériences l'animal succombait à la suite de l'opération. On ouvrait alors l'abdomen le plus tôt possible après la mort, et on retirait de nouveau de la cavité appendiculaire un peu du contenu pour en isoler la même variété du coli-bacille (par le procédé indiqué dans mon étude antérieure. — Voir *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895), et comparer sa virulence avec celle du microbe retiré de l'appendice sain. Quelquefois l'animal survivait; alors on le sacrifiait quand la maladie était apparente et on examinait le contenu appendiculaire de la même façon. Pour déterminer la virulence du coli-bacille, je me servais de cobayes et de jeunes lapins; on déterminait la dose mortelle minima d'une injection intrapéritonéale d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures.

Dans les expériences avec occlusion de l'appendice cæcal, il ne se produisait nul déplacement de son contenu, de sorte que les changements des propriétés vitales des microbes se sont accomplies pour sûr ici même, dans la cavité appendiculaire. Mais quant aux expériences où la cavité appendiculaire est restée ouverte, on pourrait faire l'objection que la flore bactérienne de l'appendice a pu changer à cause de la circulation fécale qui persistait. Je ne crois pas que cette objection soit juste; les animaux en expérience étaient mis à jeun pendant 24 heures avant l'opération, leur intestin se trouvait donc dans un état de repos: ensuite, il se produisait dans ces expériences toujours une péritonite, dont l'influence paralysante sur l'intestin est bien connue; enfin, tenant compte de la susdite objection, je

retirais toujours le contenu de la partie la plus profonde de la cavité appendiculaire, tout près du bout en cul-de-sac de l'organe, où le déplacement des masses fécales est le plus difficile.

Dans toutes les expériences, on constatait des lésions profondes de l'appendice, analogues à celles qu'on observe dans l'appendicite suppurée ou gangréneuse de l'homme : hypérémie et stase veineuse avec ou sans nécrose, infiltration leucocytaire et hémorragique de la paroi intestinale, nécrose et desquamation de la couche épithéliale, quelquefois nécrose de toute la muqueuse, folliculite circonscrite ou diffuse, altérations de la séreuse appendiculaire, anémie, gangrène et perforation de la paroi intestinale; quelquefois on trouvait aussi des petits abcès périappendiculaires.

Le contenu de l'appendice se présentait sous divers aspects : souvent il était sanguinolent, quelquefois brunâtre, stercoral. Il renfermait toujours des globules blancs en grande quantité et des hématies rouges; une fois, il était parfaitement purulent. Parmi les microbes, le coli-bacille se trouvait toujours en grande abondance; quelquefois il se développait sur gélatine en culture pure.

La lésion histologique de l'appendice étant souvent compliquée, ce n'est pas toujours qu'on trouve dans sa cavité précisément le genre de contenu auquel on s'attend d'après l'altération macroscopique de la paroi. Dans les cas de stase veineuse prononcée, on constate le plus souvent un contenu liquide, sanguinolent; mais on trouve aussi quelquefois en pareils cas un contenu liquide ou presque liquide, d'une couleur brunâtre ou semblable à celle du café au lait; ce genre de contenu renferme aussi une certaine quantité de globules rouges et de cristaux d'hémoglobine, mais surtout il est riche en globules blancs. Dans ces cas, l'altération du contenu provoquée par la stase veineuse est combinée avec celle due à l'inflammation de la paroi appendiculaire et qui peut même la masquer. Dans les expériences, où l'altération prédominante de la paroi appendiculaire est une anémie, on constate le plus souvent un contenu stercoral; mais on y trouve aussi des hématies rouges en petite quantité, ce qui correspond aux hémorragies qu'on trouve dans la paroi, et des globules blancs qui sont parfois si nombreux que le contenu appendiculaire devient purulent.

Pour démontrer les variations de la virulence du coli-bacille dans l'appendicite, je vais reproduire en résumé quelques-unes de mes expériences, sans citer celles qui ont donné des résultats analogues.

Expérience a.

On retire un peu de contenu de la partie terminale de l'appendice. Compression des vaisseaux du mésappendice par des bandes en caoutchouc; ligature de quelques petites veines. La cavité appendiculaire reste ouverte.

Mort de l'animal en 3 jours après l'opération. La cavité péritonéale renferme un liquide séro-fibrineux avec très peu d'hématies. On trouve l'appendice entouré par les anses intestinales voisines, avec lesquelles il est légèrement soudé. L'appendice est d'un rouge foncé; on voit dans sa paroi quelques petits foyers nécrotiques, correspondant aux vaisseaux fermés par la ligature. L'appendice n'est pas perforé. 5 centimètres au-dessus de son bout on voit une légère impression de la paroi, sans que la cavité appendiculaire soit fermée. La muqueuse est hyperémiee et œdémateuse, d'un brun foncé. Dans la partie supérieure de l'appendice apparaît un tout petit abcès de la paroi. On trouve dans la cavité appendiculaire un liquide sanguinolent qui imbibe quelques masses fécales. On prend une goutte de ce liquide pour l'examen bactériologique.

Examen histologique. Nécrose et desquamation de la couche épithéliale. Nécrose centrale des follicules. Dilatation des vaisseaux, infiltration leucocytaire et hémorragique de la muqueuse, submuqueuse et subséreuse; ces lésions sont beaucoup moins prononcées dans la tunique musculaire. Desquamation de l'endothèle péritonéal.

Virulence du coli-bacille, retiré de l'appendice sain :

Dose mortelle minima, tuant un cobaye de 650-700 grammes en 24 heures : 3 c. c. d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures (2,5 c. c. de la même culture tuent un animal de même poids en 7 jours).

Virulence de la même variété du coli-bacille, retiré de l'appendice pathologique : dose mortelle minima, tuant l'animal en 24 heures : 2 c. c. (1,75 c. c. de la même culture ne produit qu'une maladie passagère; chez un cobaye femelle, cette dose provoque un avortement).

Dans cette expérience, la virulence du coli-bacille, faible à l'état normal, fut exaltée en conditions pathologiques sans occlusion de la cavité appendiculaire.

Expérience b.

Compression des vaisseaux du mésappendice par des bandes en caoutchouc, ligature de la grande veine marginale; au cours de l'expérience, la coloration de l'appendice devient livide. On laisse la cavité appendiculaire ouverte.

Mort en 3 jours. On trouve dans la cavité péritonéale un liquide sanguinolent en petite quantité; parmi les microbes qu'il renferme, les plus nom-

brêux sont des cocci. L'appendice cæcal se présente tout de suite après l'ouverture de l'abdomen ; les adhérences péritonéales qui l'entourent sont très faibles. Il n'y a pas la moindre torsion ni étranglement, ni perforation de l'appendice.

La coloration de l'appendice est d'un rouge foncé. La muqueuse, très rouge, œdémateuse. Lésions histologiques analogues à celles de l'expérience *a*. Le contenu de l'appendice est presque liquide, d'une coloration de café au lait ; il renferme des globules blancs en énorme quantité et des hématies rouges.

Virulence du coli-bacille retiré de l'appendice sain :

Dose mortelle minima, tuant un cobaye de 450-500 grammes en 20 heures : 0,75 c. c. d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures.

Virulence du même bacille, retiré de l'appendice pathologique : dose mortelle minima : 0,25 c. c. d'une culture analogue.

Dans cette expérience, la virulence du coli-bacille, retiré de l'appendice pathologique, est 3 fois plus grande que celle du même bacille retiré de l'appendice normal. Le coli-bacille a exalté sa virulence dans un appendice à cavité ouverte.

Expérience *c*.

Compression des vaisseaux du mésappendice par des bandes en caoutchouc, ligature de la veine marginale. Le contenu de l'appendice normal est liquide, jaunâtre. On laisse la cavité appendiculaire ouverte.

Mort en trois jours. Péritonite septique aiguë. L'appendice, très hyperémié, est fixé au centre d'un paquet d'anses intestinales voisines par de fortes adhérences péritonéales ; en quelques endroits il est étranglé par ces adhérences, de sorte que sa cavité est fermée. Le contenu appendiculaire est sanguinolent. La folliculite est très prononcée dans cette expérience.

Le coli-bacille, dont la dose mortelle minima pour un jeune lapin de 650-700 gr., tuant l'animal en 24 heures, était à l'état normal 1,75 c. c. d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures, n'a pas exalté sa virulence dans cette expérience en conditions pathologiques, malgré la stase veineuse prononcée de la paroi appendiculaire et le caractère sanguinolent de son contenu.

Expérience *d*.

Ligature de plusieurs petits vaisseaux (artères et veines) du mésappendice et de la grande artère marginale.

Rupture de la veine marginale, hémorragie, par conséquent anémie très prononcée de l'appendice cæcal. On ferme la cavité appendiculaire par une ligature en caoutchouc.

Pendant 4 jours après l'opération, l'animal ne semble pas souffrir ; le seul symptôme pathologique est l'anorexie. Son poids tombe de 1,700 à 1,410 grammes. Le 5^e jour apparaissent des symptômes graves, l'animal est sacrifié.

A l'autopsie, on trouve une péritonite adhésive périappendiculaire. Les adhérences péritonéales entre les anses intestinales qui entourent l'appendice cæcal sont très fortes. L'appendice n'est pas perforé. Il est très anémique, d'un gris verdâtre, sa cavité est dilatée. Il renferme un contenu peu abondant, liquide, stercoral, d'un brun foncé, et un gaz très fétide en grande quantité. Dans le contenu liquide on constate, à côté des éléments ordinaires, des globules blancs en grande quantité, quelques hématies rouges et quelques cristaux d'hémoglobine. Nécrose de presque toute la muqueuse; dans les restes de cette tunique et dans la submuqueuse, on constate quelques hémorragies, mais surtout une infiltration leucocytaire. Les fibres de la tunique musculaire sont dissociées, leur noyaux se colorent mal ou ne se colorent pas du tout. Desquamation complète de l'endothèle de la séreuse appendiculaire, couverte presque totalement par un exsudat plastique.

Virulence du coli-bacille retiré de l'appendice sain : dose mortelle minima tuant un jeune lapin de 750-800 grammes en 14-15 heures est 2,25-2,5 c. c. d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures (quelques animaux ont résisté à l'injection intrapéritonéale de 2,25 c. c. de cette culture).

Virulence du même bacille, retiré de l'anse pathologique. Dose mortelle minima 2,25 c. c. d'une culture analogue.

Dans cette expérience, où on avait provoqué une anémie de la paroi d'un appendice, dont la cavité fut fermée, le coli-bacille n'a pas exalté sa virulence.

Expérience e.

Compression des vaisseaux du mésappendice par des bandes en caoutchouc. Ligature complémentaire de quelques-uns de ces vaisseaux. On ferme le canal appendiculaire par une ligature en caoutchouc; il se produit une anémie prononcée de la paroi appendiculaire. L'animal se porte bien pendant deux jours après l'opération. Le 3^e jour, le lapin est moribond; il est sacrifié.

A l'autopsie, on trouve l'appendice très anémique, très adhérent aux anses intestinales voisines. On constate quelques petits foyers nécrotiques de la paroi non perforée. La cavité appendiculaire ne renferme que très peu de gaz et des masses stérocals qui diffèrent peu du contenu du même appendice à l'état normal.

Virulence du coli-bacille retiré de l'appendice sain : dose mortelle minima, tuant un cobaye de 700-750 grammes en 20 heures, est 2,5-3 c. c. d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures (quelques animaux supportent une injection intrapéritonéale de 2,5, même de 2,75 c. c. de cette culture).

Dose mortelle minima du même microbe retiré de l'appendice pathologique, 2,5-3, c. c. d'une culture analogue (quelquefois une dose de 2,5 c. c. de cette culture ne provoquait qu'une maladie passagère).

Dans cette expérience, la virulence du coli-bacille, faible en

conditions normales, n'a subi aucune exaltation dans un appendice anémique, dont la cavité fut fermée.

Expérience f.

Compression des vaisseaux du mésappendice (artères et veines) par des bandes en caoutchouc et ligature complémentaire de quelques-uns de ces vaisseaux. Le contenu retiré de la cavité appendiculaire est assez épais, d'un brun verdâtre. On laisse la cavité appendiculaire ouverte. L'animal est sacrifié 4 jours après l'opération. A l'autopsie, on trouve une péritonite périappendiculaire; l'appendice caecal est libre, sa cavité est restée ouverte. L'examen histologique relève une desquamation de la couche épithéliale, hyperémie de la muqueuse et submuqueuse; on constate dans ces tuniques quelques hémorragies, mais la lésion prédominante est une infiltration leucocytaire; on en trouve aussi dans les autres tuniques de la paroi intestinale. La cavité appendiculaire est remplie de pus. A l'examen microscopique, on trouve dans ce pus des bâtonnets à bouts arrondis en énorme quantité. On cultive de ce pus le coli-bacille en culture pure.

Virulence du coli-bacille retiré de l'appendice sain : dose mortelle minima tuant un jeune lapin de 1,400-1,200 grammes, en 22 heures : 5 c. c. d'une culture en bouillon de bœuf de 24 heures. La même dose d'une culture analogue du même bacille retiré du pus appendiculaire ne tue un jeune lapin du même poids qu'en 80 heures.

Dans cette expérience, où la cavité appendiculaire est restée ouverte, on a réussi à provoquer une appendicite suppurée très nette par une altération de la circulation sanguine dans la paroi intestinale. La virulence du coli-bacille retiré du pus appendiculaire était, dans cette expérience, inférieure à celle du microbe, retiré de l'appendice sain.

On voit par ces recherches que dans un procès pathologique expérimental qui entraîne des altérations histologiques analogues à celles qu'on constate souvent dans l'appendicite de l'homme, le coli-bacille exalte quelquefois sa virulence.

Il ressort de ce fait que le coli-bacille n'est pas un saprophyte banal, mais qu'il peut exercer une action pathogène au cours d'une appendicite; bien entendu il est parfaitement admissible que d'autres microbes intestinaux, aérobies ou anaérobies, agissent en même temps.

Une exaltation de la virulence du coli-bacille se produisait dans ces expériences seulement dans le cas où la lésion prédominante de la paroi appendiculaire se caractérisait par une stase veineuse prononcée. Une seule fois (expérience c) où cette altération existait, la virulence du coli-bacille n'était pas exaltée; il

faut expliquer ce fait par la multiplicité des influences que subissent les microbes en pareilles conditions, influences qui peuvent se neutraliser réciproquement. Dans les cas où la paroi appendiculaire était anémique, on ne trouvait jamais la virulence du coli-bacille exaltée.

Il résulte donc de ces expériences, pour l'appendice cæcal, le même rapport entre l'altération de la paroi et la virulence du coli-bacille que j'ai constatée en 1895 pour l'intestin grêle.

D'autre part, je n'ai pu constater nulle relation entre la virulence du microbe et l'occlusion de la cavité appendiculaire : je trouvais une exaltation de la virulence du coli-bacille dans une cavité appendiculaire ouverte, et je ne la trouvais pas dans les cas où la cavité appendiculaire était close. Cependant, comme la virulence du coli-bacille dépend d'autres agents, dont un paraît ressortir de ces expériences, et comme les résultats de mon étude antérieure sur le coli-bacille démontrent que ce microbe peut exalter sa virulence dans une anse intestinale fermée, il est évident qu'il le peut également dans une cavité appendiculaire close, par exemple dans un appendice étranglé, avec stase veineuse prononcée de sa paroi.

L'expérience *f* démontre qu'on peut provoquer chez le lapin une appendicite suppurée sans occlusion de la cavité appendiculaire. Il est très intéressant que précisément dans cette expérience la virulence du coli-bacille non seulement n'était pas exaltée, mais au contraire qu'elle était inférieure à celle du même microbe isolé du contenu de l'appendice sain. D'après MM. Roger et Josué, l'appendicite suppurée expérimentale n'est pas due à une exaltation de la virulence des microbes intestinaux, mais elle résulte de l'accumulation des produits microbiens dans la cavité appendiculaire. L'expérience *f* démontre qu'en effet il peut éclater une appendicite suppurée sans exaltation de la virulence du coli-bacille. Les résultats des recherches de MM. Veillon et Zuber, s'appliquant surtout à la forme gangréneuse de l'appendicite, les propriétés pyogènes du coli-bacille, si bien connues, la prédominance de ce microbe, dans l'expérience *f*, dans le pus appendiculaire, et son développement en culture pure sur plaques de gélatine ensemencées avec ce pus, nous conduisent à la conclusion que dans cette expérience le coli-bacille avait exercé une action pathogène. Mais la virulence de ce microbe n'étant pas exaltée, com-

ment expliquer son rôle pathogène? Faut-il recourir à l'hypothèse de l'accumulation des produits toxiques de ce microbe, due à la stagnation du contenu appendiculaire?

Je suis parfaitement d'accord avec MM. Roger et Josué que, pour expliquer l'appendicite, il n'est pas nécessaire d'invoquer pour tous les cas une exaltation de la virulence des microbes intestinaux; je l'ai constaté dans plusieurs expériences. Mais en même temps je pense qu'il n'est pas nécessaire non plus d'invoquer exclusivement l'accumulation des sécrétions bactériennes par stagnation du contenu de l'appendice, due à une occlusion de sa cavité. Dans les cas analogues à l'expérience *f*, il suffit de tenir compte du fait, qu'un microbe comme le coli-bacille, qui possède même à l'état de saprophyte une certaine virulence, peut sans l'exalter exercer une action pathogène sur un organe à moindre résistance. Cette explication a déjà été appliquée théoriquement à la pathogénie de l'appendicite par M. Talamon. L'expérience *f* parle en faveur de cette explication.

Dans l'expérience *f*, la virulence du coli-bacille isolé de l'appendice pathologique était inférieure à celle du microbe retiré de l'appendice sain. Le contenu de l'appendice pathologique étant ici constitué par du pus, il faut chercher l'explication de ce fait dans les substances bactéricides dérivant de la leucolyse, et qui peut-être sont aussi sécrétées par les globules blancs vivants. Cependant ce n'est pas dans tous les cas où les globules blancs sont très nombreux dans le contenu appendiculaire que la virulence du coli-bacille est atténuée; on constate en pareils cas quelquefois même une exaltation de la virulence du coli-bacille (expérience *b*). On trouve une explication de ce fait dans la complexité d'influences chimiques et biologiques, exercées en pareilles conditions sur le microbe. Ces influences, dont le caractère, l'intensité, le moment et la durée sont différents, peuvent se combiner de diverses façons, et ce n'est que leur ensemble qui se traduit comme altération des propriétés vitales du microbe.

*
* *

La question du passage des microbes à travers la paroi intestinale n'est pas encore résolue d'une façon définitive. D'après les recherches plus anciennes, les microbes traversent assez facilement la paroi intestinale en conditions pathologiques, tandis

que d'après les recherches de date plus récente le passage des microbes n'est possible qu'à travers une paroi présentant de graves altérations histologiques. Tout le monde est d'accord que les microbes traversent les foyers nécrotiques de la paroi intestinale ; mais on n'est pas encore fixé sur le passage des microbes à travers la paroi intestinale pathologique, mais non nécrosée, sur la résistance des différentes tuniques intestinales vis-à-vis les microbes.

D'après MM. Grawitz¹ et Okar-Blom², c'est la séreuse intacte qui constitue pour les microbes la barrière la plus difficile à franchir. Les expériences de M. Pawlowsky³ ont démontré qu'une lésion chimique de cette tunique ne suffit pas pour provoquer un passage des microbes à travers l'anse altérée. M. Korkumoff attribue un rôle important à la couche épithéliale. En étudiant le passage des microbes à travers la paroi d'une anse intestinale étranglée, j'ai constaté (voir ces *Annales*, 1895, p. 734) que dans les cas où les microbes envahissent la paroi intestinale dans toute son épaisseur, « c'est la tunique musculaire qui paraît être la couche la plus résistante ». Dans une étude expérimentale plus récente, M. Tschistowitsch⁴ arrive à la conclusion que la séreuse intacte ne constitue pas la seule barrière pour les microbes traversant la paroi intestinale, et que son rôle protecteur est le même que celui de la tunique musculaire et de la muqueuse.

D'après les observations de M. Bizzozero⁵, confirmées par celles de MM. Ribbert et Ruffer, et de M. Sundberg⁶, on trouve des microbes intestinaux dans la muqueuse de l'appendice cæcal du lapin, même à l'état normal. En étudiant la paroi de l'appendice normal du lapin en préparations fixées au sublimé et colorées par la thionine, je suis arrivé à la conclusion que ce n'est pas toujours qu'on y relève des microbes. En tout cas, la quantité des microbes constatés dans une paroi appendiculaire

1. GRAWITZ, *Charité-Annalen*, XI Jhrg., 1886.

2. OKAR-BLOM, *Centralbl. f. Bact. u. Parasit.*, t. XV, 1893, n° 16.

3. PAWLOWSKY, *Zur Lehre von der Aetiologie, der Entstehungsweise und d. Formen d. acuten Peritonitis*, *Virchow's Archiv.*, t. CXVII, 1889.

4. TSCHISTOWITSCH, *Über die Durchdringlichkeit der Darmwand für Mikroorganismen bei experim. Peritonitis*, *Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anatomie* 1889, n° 137.

5. BIZZOZERO, *Centralbl. f. d. med. Wiss.*, 1885, n° 45.

6. SUNDBERG, *Upsala* 1892.

normale, est négligeable en comparaison avec celle qu'on y trouve en conditions pathologiques.

MM. Roger et Josué ont trouvé que, dans l'appendicite suppurée du lapin, les microbes intestinaux ne pénètrent pas dans la paroi; qu'ils s'y trouvent toujours en petit nombre et ne se rencontrent que dans les parties nécrosées.

Dans l'expérience *f* (appendicite suppurée), je n'ai trouvé des microbes (coli-bacilles?) que dans les couches superficielles, nécrosées de la muqueuse. Le résultat de cet examen confirme donc parfaitement l'opinion de MM. Roger et Josué. Mais dans l'appendicite gangréneuse, que j'avais provoquée dans la majorité de mes expériences, je trouvais constamment des microbes dans la paroi intestinale. C'étaient surtout les parties nécrosées qui étaient envahies par les microbes; on les trouvait aussi dans les vaisseaux et dans les foyers hémorragiques où ils étaient quelquefois très nombreux. Dans la plupart des expériences, on trouvait des microbes dans les follicules appendiculaires; mais ils étaient ici beaucoup moins nombreux que dans le tissu interfolliculaire qui leur servait de voie de propagation.

Dans les appendices dont la muqueuse et la submuqueuse étaient envahies par les microbes, on n'en trouvait relativement que très peu dans la tunique musculaire. Dans les cas où ils étaient moins nombreux dans la muqueuse et la submuqueuse, ils faisaient défaut dans la tunique musculaire. Ce fait démontre la résistance de cette tunique au passage direct des microbes intestinaux et confirme les résultats de mes recherches antérieures.

*
* *

Sans perdre de vue la différence qui existe entre une lésion artificielle de l'appendice cæcal du lapin, qui est chez cet animal un organe bien développé, et l'affection naturelle du rudimentaire appendice de l'homme, je pense qu'on peut appliquer quelques conclusions générales, ressortant de ces recherches, à la pathogénie de l'appendicite.

D'après les observations de M. Ribbert ¹, l'appendice cæcal est souvent vide. J'ai pu constater sur quelques dizaines d'appendices humains, qui ont été gracieusement mis à ma disposition

1. RIBBERT, Beiträge zur normalen und pathol. Anatomie d. Wurmfortsatzes, *Virchow's Archiv.*, t. CXXXII, 1893.

par l'Institut d'anatomie pathologique de Cracovie, qu'on trouve en effet, à côté des appendices dont le contenu stercoral ou muqueux est assez copieux, des appendices dont le contenu est très peu abondant. Mais on y trouve toujours des microbes et le coli-bacille n'y manque jamais. Une infection de l'appendice cæcal par ce bacille est donc toujours possible.

Dans l'appendicite expérimentale du lapin, le coli-bacille exalte sa virulence en certaines conditions pathologiques. Il est parfaitement admissible qu'en conditions analogues il le fait également dans l'appendicite de l'homme.

J'ai pu constater dans ces expériences un certain rapport entre l'exaltation de la virulence du coli-bacille et les altérations de la paroi appendiculaire dues à une stase veineuse; dans l'appendicite de l'homme, on trouve souvent des lésions analogues. Dans la majorité des cas, ces lésions sont secondaires; elles succèdent à l'infection de l'appendice et sont la conséquence d'une péritonite périappendiculaire plastique qui provoque des altérations de la circulation sanguine dans la paroi appendiculaire par formation d'adhérences et de brides péritonéales. Dans ces cas, une exaltation secondaire de la virulence du coli-bacille peut aggraver l'infection appendiculaire. Quelquefois l'appendicite est provoquée par une torsion ou par un étranglement de l'appendice cæcal ou de son mésentériole; dans ces cas, les altérations de la circulation sanguine précèdent l'infection appendiculaire; si le coli-bacille exalte sa virulence, l'infection est rendue plus facile.

Un corps étranger ou un calcul stercoral peut également provoquer des altérations locales de la circulation sanguine par compression et distension de la paroi appendiculaire. Dans les stades avancés de l'appendicite, l'accumulation du contenu appendiculaire peut agir de la même façon. Les procès pathologiques aboutissant à la formation d'un tissu fibreux dans la paroi appendiculaire ont le même effet. En un mot, il existe dans la pathogénie de l'appendicite toute une série d'agents qui peuvent influencer la virulence du coli-bacille par altération de la circulation sanguine dans la paroi appendiculaire.

A côté de cette influence sur la virulence du coli-bacille il en existe d'autres, dont on connaît déjà quelques-unes; ces agents peuvent également jouer un rôle dans la pathogénie de l'appen-

dicite. MM. Lesage et Macaigne ont trouvé que le coli-bacille exalte sa virulence dans les affections catarrhales de l'intestin. Pour beaucoup d'auteurs l'appendicite est en rapport intime avec l'entérite. Il est donc possible qu'une exaltation de la virulence du coli-bacille dans la cavité appendiculaire se produise quelquefois par propagation d'une affection catarrhale du gros intestin sur la muqueuse de l'appendice. De même, un coli-bacille à virulence exaltée dans une autre partie de l'intestin peut s'introduire et se fixer dans la cavité appendiculaire. Il est également admissible que, dans les appendicites épidémiques encore peu étudiées, il se produit une altération des propriétés vitales des microbes intestinaux, due à une infection qui influence leurs relations symbiotiques.

Il résulte de mes expériences que chez le lapin l'occlusion de la cavité appendiculaire n'est pas indispensable pour que le coli-bacille y exalte sa virulence et pour qu'une appendicite éclate. Dans ces dernières années, on a observé chez l'homme toute une série de cas d'appendicite avec cavité appendiculaire ouverte. D'autre part, on sait que les oblitérations de l'appendice cæcal sans procès inflammatoire de la paroi ne sont pas rares, surtout chez les individus âgés. M. Ribbert les a constatées sur 400 observations, 99 fois; dans la majorité des cas, c'étaient des oblitérations partielles; des oblitérations totales se trouvaient dans $3\frac{1}{3}$ 0/0 des cas. Les hydrosopies de l'appendice cæcal, où cet organe est transformé en un kyste dont le contenu liquide n'exerce qu'une action mécanique sur la paroi intestinale, parlent aussi en faveur de l'opinion qu'une occlusion de l'appendice cæcal ne provoque pas toujours une infection de cet organe. La stagnation du contenu appendiculaire joue sans doute un certain rôle dans la pathogénie de l'appendicite; mais, excepté le contenu gazeux, elle se produit dans les stades avancés de toute appendicite, avec ou sans occlusion du canal, par paralysie de la paroi appendiculaire. L'occlusion du canal appendiculaire ne peut donc jouer un rôle prédominant dans la pathogénie de toute appendicite.

Il résulte également de mes expériences qu'il peut éclater une appendicite suppurée avec prédominance du coli-bacille dans le pus appendiculaire sans exaltation de la virulence de ce microbe, par simple altération de la nutrition de la paroi appendiculaire.

De là, il ressort pour la pathogénie de l'appendicite l'importance de la moindre résistance du milieu intérieur. D'après les observations de M. Kummel¹ et de M. Sonnenburg², l'appendicite aiguë éclate toujours dans un organe dont la paroi est altérée par des procès pathologiques chroniques; il est fort probable que ces procès entraînent la moindre résistance de la paroi appendiculaire. Le rôle de cet agent devient pour toutes les infections de plus en plus évident. Pour l'appendicite non spécifique, son importance est d'autant plus grande que l'infection est dans cette affection toujours secondaire.

Ces recherches n'aboutissent pas à une nouvelle théorie générale de l'appendicite. Au contraire, tenant compte des variations que subit en conditions pathologiques la virulence des microbes intestinaux et la résistance de la paroi appendiculaire, je pense que la pathogénie de l'appendicite est, suivant les cas, différente. Plus on étudie les polyinfections non spécifiques, plus on arrive à la conclusion que les procès morbides qu'elles provoquent sont dus à toute une série d'agents pathogènes de différents ordres, dont la complexité ne permet pas de les renfermer dans les cadres d'une théorie générale.

Cracovie, décembre 1898.

1. KUMMEL, *l. c.*

2. SONNENBURG, Neuere Erfahrungen über Appendicitis, *Mittheilungen auf d. Grenzgebieten d. Med. u. Chir.*, t. III, 1898.

SUR LES MUCÉDINÉES THERMOPHILES

PAR M^{lle} P. TSILINSKY

C'est en 1879 que M. Miquel (1) découvrit dans l'eau de Seine un bacille immobile, capable de vivre et de se développer à la température de 70° C. Plus tard M. Van Tieghem (1881) (2) mentionna un streptocoque et un bacille thermophiles, capables de vivre encore à 74° C., et depuis, une foule de travaux, (P. Miquel (3), Globig (4), L. Rabinowitch (5), Macfadyen et Blaxall (6), Karlinski (7), Certes et Garrigou (8), Jeich (9), et d'autres, ont montré que les bacilles thermophiles sont largement répandus.

On n'a trouvé tout d'abord chez eux que des formes bactériennes ordinaires. C'est seulement l'an dernier que M. Kedzior décrivit le premier *Cladothrix thermophile*, isolé de l'eau des égouts et se développant entre 35° et 65°.

Ce nom de *Cladothrix* ne semble pas juste pour une espèce qui ne présente ni fausse ramification ni gaine commune à un grand nombre d'articles; il semble plutôt qu'on ait affaire à un *Streptothrix* (Cohn) dont les individus se caractérisent par une vraie ramification, par la formation des spores à l'extrémité des filaments et par l'absence d'organes spéciaux de fructification. Notons pourtant que ce genre *Streptothrix* est fort discuté : un désaccord existe sur la désignation à donner aux organismes en question et sur la place qu'ils occupent dans le système microbien. M. Cohn, faisant en 1875 l'étude d'un microbe¹ formant des filaments rappelant de très près le mycélium d'une mucédinée inférieure, hésita à le classer parmi les champignons, et lui assigna une place à part, en le désignant sous le nom de *Streptothrix*.

MM. Sauvageau et Radais ont proposé de remplacer ce nom par celui de *Oospora*; MM. Toni et Trévisan par celui de *Nocardia* (en l'honneur de M. Nocard, qui découvrit le microbe du « Farcin du bœuf »); Gasperini par celui d'*Actinomyces*; M. Werestneff, dans la monographie nouvellement parue sur l'actinomycose, soutient cette dernière dénomination.

1. Il s'agit du microbe découvert par MM. Graefe et Forster dans le canal lacrymal de l'homme.

Enfin d'autres mycologues, parmi lesquels se trouve le savant allemand Fischer, prétendent que les formes en question seraient des formes de souffrance de diverses mucédinées supérieures, ayant perdu leurs organes spéciaux de fructification par suite de l'influence des milieux. Nous nous arrêterons au nom d'« Actinomyces », choisi par Gasperini.

*
* *

Dans mes recherches sur les bactéries thermophiles, j'ai rencontré deux espèces d'actinomyces végétant entre 48° et 68°.

Voici comment je les ai isolées : on ensemait sur pommes de terre des parcelles de terre ou de fumier ; puis on les plaçait dans l'étuve à une température de 53-55° C. Au bout de 16 heures on observait sur différents endroits de la surface des pommes de terre une couche blanche, pulvérulente, entremêlée de nombreuses colonies de bacilles thermophiles, dont il est facile d'isoler deux espèces à l'aide de plaques de gélose maintenues à une température de 55-57°.

Le thermoactinomyces isolé de la terre présente des filaments ramifiés larges à peu près de 0,5 μ (fig. 6). Il forme facilement des spores sur tous les milieux nutritifs, surtout sur la pomme de terre. Les spores apparaissent au bout des filaments sous forme de renflements ronds ou ovoïdes (fig. 5).

Ces renflements grossissent, et les spores, devenues tout à fait mûres, se séparent des filaments.

Le mycélium se colore facilement par les couleurs d'aniline et par le Gram. Il en est de même pour les spores tant qu'elles ne se sont pas séparées des filaments ; mûres et détachées, elles restent incolores, sauf une petite bordure qui prend la couleur.

Cet actinomyces est probablement très répandu dans la nature, je l'ai toujours rencontré dans les matériaux les plus variés, terres, foin, paille, différentes céréales, fumier, pomme de terre, etc. En raison de ce fait, je me permettrai de le désigner sous le nom de *thermoactinomyces vulgaris*.

Cette espèce croît dans les limites de 48° à 68° C. L'optimum de sa croissance est près de 57°. A 70° il ne pousse plus ; à 37° et à plus forte raison à la température ordinaire, il peut rester inerte un mois, et pousser en 24 heures, quand on le transporte alors dans une étuve à 56-57° C. A 48° la croissance est très lente ; on ne la voit guère qu'au bout de 3 jours.

Les spores ne périssent pas après 20 minutes à 100° à l'autoclave. Elles supportent aussi très bien l'action des substances désinfectantes; l'acide phéniquè à 5 0/0 ne les tue pas au bout de 24 heures.

Le *thermoactinomyces vulgaris* se cultive bien sur tous les milieux ordinaires, liquides et solides.

C'est dans le bouillon qu'il pousse le mieux: au bout de 16 heures déjà, il donne une culture aussi abondante que celles que les *actinomyces* ordinaires ne donnent qu'au bout de 48 heures et plus. Macroscopiquement les cultures de ce champignon ne se distinguent en rien de celles des *actinomyces* ordinaires: on observe au fond du bouillon, qui reste limpide, de longs filaments spiralés fortement ramifiés, dont certains portent des spores à leur extrémité. On voit quelquefois apparaître à la surface du bouillon des colonies isolées d'un blanc neigeux, qui parfois confluent, formant ainsi une pellicule.

Sur la gélose (simple, glycinée ou sucrée) il croît également très rapidement et abondamment, formant à la surface une espèce de poussière blanche, faite des spores et des filaments aériens du champignon.

La figure 3 représente une colonie de ce champignon à la grandeur normale; elle est âgée de 4 jours.

Au nombre des propriétés biologiques du champignon il faut encore mentionner la propriété qu'il a de liquéfier la gélatine, de coaguler puis de liquéfier à nouveau le lait. La réaction du lait devient acide très prononcée; la réaction de la gélatine ne change pas, restant légèrement alcaline. Il ne donne pas d'amylase; on n'a pas constaté la réaction de l'indol dans des cultures anciennes. C'est un aérobie, car,ensemencé d'après la méthode de Liborius sur la gélose par piqure, il ne croît qu'à la surface.

L'injection qu'on en a fait aux souris et aux cobayes, sous la peau et dans le péritoine, ne produisit aucun phénomène morbide local ou général.

*
* *

L'autre espèce thermophile d'*actinomyces*, que j'ai isolée du fumier, se distingue surtout de celle-ci par la largeur de ses filaments, qui atteignent de 1,2 μ à 1,5 μ (fig. 1). De plus ses spores se colorent entièrement, contrairement à celles du premier, même lorsqu'elles sont détachées des filaments; les

spores se disposent très souvent en chapelets (fig. 2). Il ne liquéfie pas la gélatine après 4 semaines d'attente; il croît, bien que faiblement, à l'état d'anaérobiose; ses spores sont moins résistantes vis-à-vis de la chaleur que celle du *Thermoactinomyces vulgaris*, et ne supportent pas la température de 100° pendant même 5 minutes, mais elles résistent à 80° à sec pendant 3 heures. La comparaison de ces deux *actinomyces* avec celui qu'a décrit M. Kedzior est difficile.

Mon *Thermoactinomyces vulgaris* ressemble à celui de M. Kedzior, par sa forme, le mode de formation des spores, leur manière de prendre la coloration.

Mais il s'en distingue en ce qu'il ne pousse pas à 35°, et en ce que la membrane formée à la surface du bouillon ne devient pas verdâtre et ne se disloque pas avec le temps, ce que M. Kedzior donne comme très caractéristique pour son champignon, qui, de plus, se distingue par une odeur particulière très marquée, tandis que les deux champignons que je viens de décrire sont inodores.

*
* *

Enfin j'ai réussi à isoler d'un échantillon de terre un microbe qui, d'après son organisation, est placé au-dessus de tous les microbes thermophiles décrits jusqu'ici. C'est une mucédinée supérieure, présentant un mycélium véritablement ramifié, et portant des conidies à l'extrémité des filaments¹. Je ne suis pas parvenue à lui découvrir d'organes spéciaux de fructification, malgré de nombreux essais de culture sur les milieux les plus variés, à l'état aérobie et à différents degrés d'anaérobiose.

En attendant que j'en aie étudié la morphologie, je propose de lui donner le nom de *Thermomyces lanuginosus*, en raison de l'aspect duveteux qu'elle prend sur le pain blanc.

Ce champignon peut se cultiver entre 42° et 60° C., et n'est guère capable de se développer à 37°, et encore moins à la température ordinaire. Le fait de l'existence d'une mucédinée thermophile capable de végéter à une température si élevée est, je crois, nouveau; il est d'autant plus curieux que la plupart des mucédinées se cultivent le mieux à 20°, et que seules quelques

1. Je ne puis manquer d'exprimer à cette occasion ma profonde reconnaissance à M. le professeur Brefeld pour l'extrême obligeance qu'il a mise à examiner la culture et me donner son opinion à ce sujet.

formes pathogènes peu nombreuses ont l'optimum de leur croissance à 37°.

Le mycélium du champignon fut remarqué sur une pomme ensemencée avec des parcelles de terre du jardin. Pour le débarrasser des bactéries thermophiles qui l'accompagnaient, je le réensemencai d'abord sur une surface de pain blanc maintenue à 52-53°, où le champignon croît très abondamment, tandis que les bactéries se développent à peine. Après avoir fait ensuite des cultures en plaques de gélose de spores de ce champignon, j'ai obtenu ce dernier en culture pure. Ce champignon présente macroscopiquement un mycélium duveteux de couleur blanche ; sous le microscope on voit clairement de grosses spores, disposées au bout des filaments mycéliens ramifiés. (Fig. 7 et 8.) Ces derniers se colorent facilement avec toutes les couleurs d'aniline ainsi que par la méthode de Gram. Quant à ses propriétés biologiques, je me bornerai, pour le moment, aux remarques suivantes : il croît très bien sur tous les milieux nutritifs ordinaires, solides et liquides ; c'est sur du pain blanc qu'il croît le mieux. L'optimum de sa croissance est de 54-55° C. A 63°, et à 37° C. d'un autre côté, il ne se cultive pas ; à 42° la croissance a lieu, mais elle est relativement très faible. Au bout de 2 ou 3 jours, les spores apparaissent sur les milieux solides, tandis que dans les milieux liquides les plus divers l'apparition de ces spores n'a jamais été observée. Au fur et à mesure que le champignon continue à croître, son mycélium perd graduellement son aspect primitif duveteux, devient plus compact et prend une teinte foncée. Les spores supportent sans gêne un chauffage à sec à 80° C. pendant 3 heures ; elles sont tuées au bout d'une minute à 100°. Le champignon liquéfie mais lentement la gélatine, et par conséquent possède le ferment protéolytique : il intervertit le sucre de canne, mais il ne manifeste pas d'amylase ; il coagule et éclaircit ensuite le lait, qui montre une réaction acide.

Ainsi nous voyons que le phénomène de thermobie est largement répandu dans le règne végétal, et non seulement parmi les bactéries, mais aussi parmi les êtres relativement plus élevés, tels que les mucédinées.

Ce travail fut entrepris sur le conseil de M. Gabritschewsky, à qui j'en exprime ma sincère reconnaissance.

BIBLIOGRAPHIE

1. MIQUEL, *Bulletin de la statistique municipale de Paris*, n° de décembre 1879.

2. VAN TIEGHEM, *Bulletin de la Société bot. de France*, janvier 1881, p. 35.

3. MIQUEL, Monographie d'un bacille vivant au delà de 70° C. — *Annales de micrographie*, 1888, n° 1, et *Annuaire de Montsouris*, 1881, page 464.

4. GLOBIG, *Zeitschrift für Hyg.*, Bd. III; 1888.

5. L. RABINOWITSCH, *Ibid.*, Bd. XX, 1893.

6. MACFADYEN AND BLAKALL, *Journal of Bacteriology and Pathology*, Bd. III; 1894.

7. KARLINSKY, Zur Kenntniss der Bacterien der Thermalquellen, *Hygienische Rundschau*, 1898, n° 15.

8. CERTES ET GARRIGOU, *Comptes rendus*, t. CIII; p. 703.

9. JEICH, Beitrag zur Kenntniss therm. Bact., *Hyg. Rundschau*, 1896, n° 16.

10. KEDZIOR, Ueber eine thermoph. Cladrothrix, *Arch. f. Hyg.*, XXVII Bd.

11. GASPERINI, Ulteriori ricerche sul genere Actinomyces, Harz, Versuche über das genus Actinomyces, *Cent. f. Bact. u. Parasit.*, Bd. XV; p. 684.

12. BERESTNEFF, *Sur l'actinomycose* (en russe), 1897.

13. RADAIS ET SAUVAGEAU, *Annales de l'Inst. Past.*, t. VI, p. 242.

14. Cité d'après le travail de MM. Radais et Sauvageau. *Ibid.*, p. 271 et 247.

15. MACE, *Traité de bactériologie*, 1897, p. 1024-1049.

16. FISCHER, *Vorlesungen über Bacterien*, Iéna, 1897.

17. COHN, Beiträge für Biologie der Pflanzen, 1875.

18. COHN, *Berichte der deutschen bot. Gesells.*, 1893.

EXPLICATION DE LA PLANCHE IV

Fig. 1. Culture sur gélose, Thermoactinomyces II, coloration à la fuchsine, aqueuse. Gross. 800 fois.

Fig. 2. Culture sur pomme de terre, Thermoactinomyces II, Gross. 800 fois. Disposition des spores en streptocoques. Coloration au Gram.

Fig. 3. Une colonie de Thermoactinomyces vulgaris non colorée, grandeur naturelle.

Fig. 4. Une colonie de Thermoact. II, grandeur naturelle, non colorée.

Fig. 5. Les spores du Thermoact. vulgaris prises sur une culture en pomme de terre, gross. 800 fois, coloration à la fuchsine.

Fig. 6. Culture sur bouillon du Therm. vulgaris, coloration au Gram.

Fig. 7. Mycélium de la mucédinée thermophile; culture sur du pain blanc, gross. 800 fois, coloration au Gram.

Fig. 8. Mycélium de la mucédinée thermophile; gross. 350 fois, coloration au Gram.

RECHERCHES SUR LES PROPRIÉTÉS NEUTRALISANTES

DE LA BILE A L'ÉGARD DU VIRUS RABIQUE

PAR M. H. VALLÉE,

RÉPÉTITEUR A L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

(Travail du laboratoire de M. le professeur Leclainche.)

Les recherches entreprises par Babès et Lepp¹, par Tizzoni et Schwarz², Tizzoni et Centanni³, tendent à prouver qu'il existe une antitoxine dans le sang des animaux immunisés contre la rage. Plus récemment, les travaux de Calabrese⁴ nous ont appris ce qu'avait d'incertain le pouvoir neutralisant des centres nerveux des animaux immunisés à l'égard du virus rabique.

M. Franzius d'autre part, dans un travail inspiré par les recherches de Robert Koch sur la propriété antitoxique de la bile dans la peste bovine, prétend que la bile des animaux morts de la rage contient une antitoxine rabique⁵.

Tout d'abord, l'auteur constate que la bile des lapins enragés *n'est pas virulente*. Il étudie ensuite le pouvoir préventif de cette bile : des lapins reçoivent sous la peau, à plusieurs reprises, 0,50 à 1 c. c. de bile rabique; dix jours après la dernière inoculation de bile, les animaux sont inoculés sous la dure-mère avec une dose mortelle de virus fixe. Tous les lapins, sauf un, succombent à l'épreuve. La bile des animaux enragés ne possède donc pas de propriétés préventives.

Dans une seconde série d'expériences, Franzius inocule le virus dans la chambre antérieure de l'œil droit, tandis que l'œil gauche reçoit une égale quantité de bile rabique. Les animaux

1. BABÈS ET LEPP, Recherches sur la vaccination antirabique, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889, p. 384.

2. TIZZONI ET SCHWARZ, La prophylaxie et la guérison de la rage par le sang des animaux vaccinés, *Annales de micrographie*, 1892, p. 469.

3. TIZZONI ET CENTANNI, Siero antirabbico ad alto potere immunizante applicabile all'uomo, *Riforma medica*, 27 décembre 1893.

4. CALABRESE, *Clinica moderna*, 11 et 18 janvier 1899, *Semaine médicale* n° 5, 1889.

5. FRANZIUS, Die Galle toller Tiere als Antitoxin gegen Tollwut, *Centralblatt für Bakter.*, t. XXIII, p. 782.

inoculés dans ces conditions (quatre cobayes et cinq lapins) sont tous morts de la rage, mais moins rapidement que les témoins.

L'auteur inocule enfin sous la dure-mère de 9 lapins un mélange à volumes égaux de bile rabique et d'une émulsion de virus fixe (bile 0,2, émulsion de moelle allongée 0,2); les neuf animaux inoculés survivent.

La bile des animaux morts de la rage neutralise donc le virus rabique. Ce pouvoir, d'après Franzius, n'est pas dû à une simple action chimique: il s'agit là d'un véritable pouvoir antitoxique, car la bile des animaux sains (bœuf, porc, mouton), mélangée au virus et inoculée dans les mêmes conditions, n'entrave nullement l'évolution de la rage.

A priori, il nous a semblé surprenant que l'antitoxine rabique, si elle existe réellement dans la bile, exerce son action lorsqu'on l'introduit sous la dure-mère mélangée au virus, alors qu'elle reste inactive lorsqu'on l'inocule sous la peau à titre préventif.

Dans le but de vérifier les résultats de Franzius, nous avons entrepris une série d'expériences portant sur soixante lapins. Nous avons utilisé pour nos recherches du virus de diverses provenances, notamment celui obtenu par MM. Leclainche et Morel dans leurs inoculations intracérébrales en série. La bile de lapin a été seule employée; sa pureté au point de vue microbien était toujours contrôlée par l'ensemencement préalable d'une goutte de ce liquide; seules étaient utilisées les biles qui n'avaient pas donné de culture après 24 heures.

I. — Pouvoir préventif de la bile de lapin enragé inoculée sous la peau.

Dans la recherche de cette propriété, nous avons inoculé la bile de diverses façons :

A. A doses répétées de 1 à 4 c. c. plusieurs jours avant l'inoculation du virus dans l'œil ;

B. A dose forte variant de 1 à 3 c. c. en même temps que le virus était introduit dans la chambre antérieure de l'œil ou sous les méninges;

C. Les animaux reçoivent d'abord de la bile sous la peau, puis, plusieurs jours après, du virus rabique dans l'œil, et on continue à les soumettre à des injections de bile rabique pendant plusieurs jours.

Tous nos lapins sont morts, sauf un. *La bile des animaux morts de la rage est donc dépourvue de tout pouvoir préventif.* L'introduction de ce liquide sous la peau du lapin n'est pas toujours inoffensive; elle provoque souvent la mort du sujet par intoxication. Nous n'avons relevé aucune particularité dans la durée de l'incubation et la marche de la maladie chez les animaux traités; la rage évolue chez eux sensiblement comme chez les témoins.

II. — *Inoculations intracrâniennes du mélange de bile et de virus rabique.*

Nous avons constaté, comme Franzius l'a indiqué, que l'inoculation sous la dure-mère d'un mélange à volumes égaux d'une émulsion de virus rabique et de bile de lapin enragé ne tue pas les animaux.

INOCULATIONS SOUS LA DURE-MÈRE

20 décembre 1898

| | | |
|----------------|---|------------------------------|
| LAPIN N° 19 | Mélange volumes égaux émulsion de bulbe, 3 ^e passage, et bile, même lapin. | Survit. |
| LAPIN N° 20 | Mélange, volumes égaux, bile et émulsion de bulbe lapin, rage 3 ^e passage. | Survit. |
| LAPIN N° 21 | Témoin, même virus pur, sous la dure-mère. | Mort le 30 déc. 10 jours. |

Dès le début de nos essais de contrôle sur ce point, nous nous sommes heurté à une série d'accidents. Introduite sous la dure-mère, la bile rabique, comme la bile normale d'ailleurs, provoque l'apparition de phénomènes graves (coma, troubles épileptiformes), qui se terminent par la mort des animaux en un délai variable de quelques minutes à 48 heures.

Dans l'exposé de ses recherches, Franzius ne mentionne pas la possibilité de tels accidents; nous les avons attribués tout d'abord à quelque faute opératoire; plus tard, nous avons acquis la preuve qu'ils dépendent simplement de l'action spéciale qu'exerce la bile sur l'écorce cérébrale. Par ce mode d'inocula-

tion, il est impossible d'obtenir de belles séries : dans un seul essai, portant sur 13 lapins, nous eûmes 7 décès immédiats.

Nous avons tenté alors d'inoculer nos mélanges de bile rabique et de virus dans la chambre antérieure de l'œil; ce mode d'inoculation est, on le sait, presque aussi sévère que le dépôt du virus sous les méninges.

III. — *Inoculations intraoculaires.*

Huit lapins sont inoculés, dans la chambre antérieure de l'œil, avec un mélange à volumes égaux de bile de lapins enrégés et de virus de provenances diverses. La bile et le bulbe employés dans une expérience déterminée sont prélevés sur le même sujet. L'inoculation du mélange est pratiquée après un temps de contact variable de quelques minutes à plusieurs heures. Nous laissons l'humeur aqueuse s'écouler par l'aiguille, aussi complètement que possible, avant de pousser l'injection; la quantité de matière inoculée, grâce à cette précaution, oscille entre 1/4 et 1/2 c. c.

INOCULATIONS INTRAOCULAIRES, VIRUS ET BILE RABIQVES

1^{er} février 1899.

| | | | |
|----------------|--|--------------------|-------------------------|
| LAPIN N° 31 | Mélange à volumes égaux, émulsion bulbe et bile lapin, rage, 6 ^e passage. | CONTACT 45 min. | Survit. |
| LAPIN N° 32 | Même mélange. | 1 heure. | Survit. |
| LAPIN N° 33 | Même mélange. | 2 heures. | Survit. |
| LAPIN N° 34 | Émulsion bulbe, rage, 6 ^e passage. | | Mort en 12 jours. |

Les huit lapins inoculés par ce procédé avec le mélange d'émulsion de bulbe virulent et de bile rabique ont résisté; les témoins qui ne reçoivent que du virus pur succombent dans les délais ordinaires. Ces faits confirment donc le résultat des inoculations intracrâniennes.

*
*
*

Franzius prétend que la neutralisation du virus rabique par la bile des animaux morts de la rage correspond à une véritable action antitoxique, et non pas seulement à un pouvoir antiseptique de cette substance, car le mélange de bile normale de divers animaux (bœuf, porc, mouton)¹ et de virus rabique tue les lapins auxquels on l'inocule comme le virus pur lui-même. Nous ne pouvons, après nos essais de contrôle, accepter ce paragraphe des conclusions de Franzus.

Nous inoculons, dans trois séries d'expériences, à 6 lapins, dans la chambre antérieure de l'œil droit, un mélange à volumes égaux d'une fine émulsion de bulbe virulent et de bile de lapin normal, en même temps que des témoins reçoivent le virus pur. Comme lors des inoculations de virus rabique et de bile de lapin mort de la rage, nous injectons 1/4 à 1/2 c. c. du mélange.

Tous nos témoins succombent; *pas un seul des lapins qui reçoivent le virus mélangé à de la bile normale ne devient enragé.*

INOCULATIONS INTRAOCULAIRES, VIRUS RABIQUE. — BILE NORMALE

25 février 1899.

| | | | |
|----------------|---|--------------------|-------------------------------|
| LAPIN N° 40 | Mélange bile, lapin sain, et bulbe, rage de passage. | CONTACT 45 min. | Survit. |
| LAPIN N° 41 | Mélange bile lapin sain; et bulbe, rage de passage. | 3 heures. | Survit. |
| LAPIN N° 42 | Témoin, même virus pur. | | Mort le 9 mars (12 jours). |

Lors d'inoculation intraoculaire, *la bile normale se comporte donc à l'égard du virus rabique absolument comme la bile des animaux morts de la rage.*

Nous avons pu, d'autre part, nous convaincre que l'inoculation sous la dure-mère du mélange de bile normale de lapin et de virus rabique ne tue pas non plus les animaux.

Tout cela nous autorise à conclure que la bile des animaux morts de la rage *n'est pas antitoxique*, mais qu'elle agit bien plutôt à la manière d'un *antiseptique*.

1. Dans cette nomenclature, Franzus ne mentionne pas le lapin.

Si la bile rabique contenait une antitoxine, celle-ci devrait, il semble, se comporter comme les autres vis-à-vis des procédés qui anéantissent le pouvoir des antitoxines.

Nous avons donc traité une assez grande quantité de bile rabique par la chaleur (110° pendant 10 minutes). Une fois refroidie, cette bile a été mélangée à son volume d'une fine émulsion de bulbe virulent. Plusieurs lapins ont été inoculés sous la dure-mère avec quelques gouttes de ce mélange; un certain nombre d'entre eux a succombé immédiatement, les animaux qui ont survécu à l'opération *ne sont pas devenus enragés*.

INOCULATIONS

4^{er} mars.

| | | | |
|----------------|--|----------------------|----------------------------|
| LAPIN N° 50 | Bile rabique, lapin et bulbe, 8° passage, volumes égaux. | } Sous la dure-mère. | Survit. |
| LAPIN N° 51 | Bile rabique chauffée, et bulbe lapin, 8° passage, vol. égaux. | } Sous la dure-mère. | Survit. |
| LAPIN N° 52 | Bile normale lapin, bulbe lapin, 8° passage, volumes égaux. | } Sous la dure-mère. | Survit. |
| LAPIN N° 53 | Témoin bulbe, 8° passage. | } Sous la dure-mère. | Mort le 10 mars (9 jours). |

L'inoculation intraoculaire de virus rabique et de bile rabique chauffée ne tue pas non plus le lapin. On ne peut donc admettre que la bile agit comme antitoxique : son action est purement antiseptique.

Ce qui le prouve encore, c'est que l'inoculation intraoculaire de la bile et du virus, pratiquée immédiatement après que le mélange a été effectué, tue les lapins aussi vite que le virus pur lui-même. Le même mélange inoculé après un temps de contact variable est parfaitement inoffensif; il suffit de quelques minutes de contact pour obtenir la neutralisation du virus.

INOCULATIONS BILE RABIQUE, VIRUS, SANS CONTACT PRÉALABLE
ET APRÈS CONTACT

1^{er} mars 1899.

| | | | |
|----------------|---|---|---------------------|
| LAPIN N° 58 | <i>In œil, mélange volumes égaux, bile et émulsion, bulbe lapin, rage de passage.</i> | Inoculé sans contact préa- lable. | Mort le 19 mars. |
| LAPIN N° 59 | <i>In œil, mélange volumes égaux, bile et émulsion, bulbe lapin, rage de passage.</i> | Inoculé après 15 minutes. | Survit. |
| LAPIN N° 60 | <i>In œil, témoin, même virus.</i> | | Mort le 20 mars. |

Enfin, nous avons constaté que l'inoculation d'un mélange de bile normale ou rabique et de virus est incapable de conférer l'immunité. *Aucun des 20 animaux qui ont résisté aux inoculations sous les méninges ou dans l'œil, de bile rabique, de bile rabique chauffée ou de bile normale mélangées au virus n'a survécu à l'inoculation de contrôle.* Tous sont morts dans les délais ordinaires.

CONCLUSIONS.

I. La bile des lapins morts de la rage ne renferme pas d'antitoxine rabique.

II. La bile du lapin joue, à l'égard du virus rabique, le rôle d'un antiseptique très actif. En quelques minutes, une émulsion de bulbe virulent est neutralisée par un volume égal de bile.

III. L'inoculation d'un mélange, à volumes égaux, de virus rabique et de bile de lapin mort de la rage ou de bile de lapin sain ne tue pas les animaux; elle ne leur donne pas l'immunité.

L'INOCULATION INTRA-CÉRÉBRALE DU VIRUS RABIQUE

PAR MM.

E. LECLAINCHE,

ET

CH. MOREL.

PROFESSEUR A L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE
DE TOULOUSE.

AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE TOULOUSE.

Au cours de recherches sur les inoculations virulentes dans le cerveau, nous avons été amenés à étudier les effets du dépôt direct du virus rabique dans l'encéphale.

L'inoculation d'une dilution de matière cérébrale en plein cerveau est parfaitement tolérée; on peut injecter ainsi, sans provoquer d'accidents, immédiats ou consécutifs, 1/4 de c. c. d'une émulsion assez épaisse chez le lapin, et 1/2 c. c. chez le chien.

Nous avons déjà décrit sommairement la technique très simple de l'opération ¹. En aucun cas, nous n'avons eu recours à l'anesthésie des sujets; mais il est indispensable que ceux-ci soient solidement fixés. Pour le lapin, la planche de Malassez assure une immobilisation parfaite. Les poils sont coupés ou rasés sur la région du crâne; une antisepsie sommaire est suffisante en raison du peu d'importance du traumatisme opératoire. La perforation du crâne est pratiquée sur le trajet d'une ligne qui rejoindrait les commissures postérieures des paupières, à deux millimètres environ en dehors de la ligne médiane. La peau, très mince à ce niveau, est incisée sur une longueur d'un centimètre et demi, et l'on arrive directement sur le crâne. Nous nous servons pour opérer la perforation d'un petit foret à glissière, employé pour le travail du bois découpé et que l'on trouve à très bas prix dans le commerce. On adapte sur l'appareil de petites mèches mesurant 2 millimètres de largeur et pourvues d'un curseur d'arrêt, fixe ou mobile, placé à une distance de deux millimètres. L'os, peu épais, est ouvert avec la plus grande facilité et sans le moindre danger. L'aiguille de la seringue de

1. E. LECLAINCHE et CH. MOREL. Sur les inoculations virulentes intra-cérébrales. *Société de biologie*, 7 janvier 1899.

Pravaz est enfoncée de haut en bas, en dirigeant la pointe légèrement en avant et en dehors, à une profondeur de 1 centimètre à 1 cent. 1/2. On injecte 1/8 à 1/4 de c. c. de liquide. Si on inocule plus de 1/8 de c. c., une partie de la matière inoculée reflue ordinairement par l'orifice de l'os. La plaie cutanée est fermée par deux points de suture, lavée à l'alcool, puis recouverte d'une mince nappe d'ouate et de collodion. On constate parfois, au cours de l'intervention, une crise passagère et sans gravité d'épilepsie jacksonnienne; c'est là le seul accident immédiat constaté.

Nous avons eu recours tout d'abord aux inoculations intracérébrales du virus de la rage des rues. Dans cinq cas de rage du chien, la rage est apparue sur les lapins inoculés du 14^e au 17^e jour; dans un cas de rage du cheval, les premiers symptômes ont été constatés le 13^e jour.

Nous avons pratiqué ensuite deux séries d'inoculations, de lapin à lapin, avec du virus des rues, provenant du chien, dans le but d'étudier les modifications subies par la virulence. Une première série comprend douze passages consécutifs; une seconde n'a été entretenue que jusqu'au quatrième passage. Les résul-

| PREMIÈRE SÉRIE | | | DEUXIÈME SÉRIE | | |
|----------------------------|------------|------------|----------------------------|------------|--------------|
| | INCUBATION | MORT APRÈS | | INCUBATION | MORT APRÈS |
| 1 ^{er} passage... | 15 jours | 16 jours | 1 ^{er} passage... | 14 jours | 15 jours 1/2 |
| 2 ^e — ... | 16 — | 16 — 1/2 | 2 ^e — ... | 15 — | 15 — 1/2 |
| 3 ^e — ... | 15 — 1/2 | 16 — | 3 ^e — ... | 15 — | 16 — |
| 4 ^e — ... | 12 — 1/2 | 13 — 1/2 | 4 ^e — ... | 13 — | 13 — 1/2 |
| 5 ^e — ... | 8 — 1/2 | 9 — 1/2 | | | |
| 6 ^e — ... | ? | 9 — | | | |
| 7 ^e — ... | 10 — | 10 — 1/2 | | | |
| 8 ^e — ... | 9 — | 9 — 1/2 | | | |
| 9 ^e — ... | 7 — 1/2 | 9 — | | | |
| 10 ^e — ... | 8 — | 9 — | | | |
| 11 ^e — ... | 9 — | 9 — 1/2 | | | |
| 12 ^e — ... | 7 — | 8 — | | | |

tats obtenus sont résumés dans le tableau ci-joint. Des chiffres mentionnés, le premier indique le temps écoulé entre l'inoculation et l'apparition des premiers symptômes (incubation), le second fait connaître la durée totale de l'évolution.

Dans presque tous les passages, deux lapins ont été inoculés

en même temps; presque toujours les animaux ont été pris simultanément ou à quelques heures d'intervalle seulement. Nous ne relevons que deux exceptions. L'une est relative au 6^e passage de la première série; des deux lapins inoculés le 31 janvier, l'un est trouvé mort le 9 février au matin (moins de 9 jours); son compagnon est pris le 10 au matin (10 jours) et il succombe dans la nuit du 10 au 11 (10 jours 1/2). Le bulbe du premier lapin est inoculé à deux lapins qui tous deux sont pris de rage le 18 au matin (9 jours). La seconde se rapporte aux inoculés de la 11^e série; alors que l'un est pris le 7^e jour et meurt le 8^e, l'autre reste indemne jusqu'au 11^e jour et il meurt après 12 jours seulement. Le bulbe du premier lapin est inoculé à deux lapins qui sont pris ensemble le 7^e jour; celui du second est inoculé à deux autres pris ensemble le 8^e jour.

Les inoculations intra-cérébrales en série permettent, on le voit, de réduire rapidement la période d'incubation; après être restée stationnaire pendant trois passages, la virulence paraît s'exalter rapidement; la période d'incubation étant ramenée successivement de 16 jours à 13 jours 1/2 et à 9 jours; après quelques oscillations, elle paraît se fixer à 7 jours environ.

Il était intéressant de comparer les résultats de l'inoculation intra-cérébrale avec ceux de la pénétration du même virus dans la chambre antérieure de l'œil et dans les méninges. Cette comparaison a été faite à plusieurs reprises :

a) Les résultats comparés de quelques inoculations pratiquées dans le cerveau et dans l'œil avec un même virus sont résumés ci-après :

| | Tue dans le cerveau en : | Tue dans l'œil en : |
|---|-----------------------------|------------------------|
| Virus des rues (2 ^e série) | 15 jours 1/2 | 22 jours |
| — 2 ^e passage (2 ^e série) | 16 — | 15 — |
| — 3 ^e — (1 ^{re} série) | 13 — 1/2 | 15 — |
| — 4 ^e — — — | 9 — 1/2 | 14 — |
| — 6 ^e — — — | 9 — 1/2 | 12 — |
| — 8 ^e — — — | 9 — | 11 — |
| | | 12 — |

b) Deux fois le virus de passage est inoculé en même temps dans le cerveau et sous la dure-mère. Le virus de 2^e passage (2^e série), qui tue dans le cerveau en 15 jours 1/2, tue dans les méninges en 21 jours; le virus de 4^e passage (2^e série) qui tue dans le cerveau en 13 jours 1/2, tue sous la dure-mère en 14 jours.

Dans ces conditions, nous avons voulu constater les effets de

l'inoculation intra-cérébrale du virus *fixe*. Nous recevons de l'Institut Pasteur de Paris le cerveau, immergé dans la glycérine, d'un lapin de 527^e passage, mort le 6 février; le 10 février, à 5 heures du soir, on inocule, avec une émulsion de bulbe, un lapin sous la dure-mère et un autre dans le cerveau. Le premier présente des troubles de la locomotion dans la matinée du 18 (7 jours 1/2); la paralysie est très lentement envahissante et la mort arrive seulement le 23 à 8 heures du matin (12 jours 1/2).

Le lapin inoculé dans le cerveau est pris le 24 au matin (10 jours 1/2); il est trouvé mort le 23 au matin (12 jours 1/2). Ainsi, chez les deux animaux, l'évolution, — notablement retardée, — s'est montrée tout à fait comparable ¹.

La même épreuve est renouvelée avec du virus fixe frais. Deux lapins sont inoculés sous la dure-mère et deux autres dans le cerveau; tous présentent les premiers signes de la rage le septième jour; l'évolution est identique chez tous et ils succombent le dixième jour. Deux autres lapins inoculés, l'un sous la dure-mère, l'autre dans le cerveau, sont également pris ensemble le septième jour, sans que l'on constate aucune différence dans la marche de l'affection ².

Si l'on compare les résultats de l'inoculation dans le cerveau et dans l'œil, on voit que la durée de l'incubation est notablement diminuée par le dépôt direct dans les centres. Les différences constatées varient toutefois dans des limites étendues (un à sept jours), et il semble qu'elles doivent être rapportées à la rapidité plus ou moins grande de l'absorption dans l'œil et de l'apport pour la voie nerveuse.

L'évolution de la rage reste identique que le virus soit déposé à la surface du cerveau ou dans la masse des hémisphères. Lors du dépôt sous la dure-mère, l'absorption par les méninges et l'envahissement des centres doivent s'opérer avec une extrême

1. Nous avons voulu voir si la modification se maintiendrait par un second passage. Le 24, à 9 heures du matin, on inocule un second lapin, dans le cerveau avec une dilution de bulbe. L'animal présente le 7 mars (11 jours) de la paralysie localisée au membre postérieur droit; le 8, il existe de la paralysie envahissante; le 9, la paralysie est généralisée; l'animal meurt dans la nuit du 9 au 10 (13 jours 1/2).

Ainsi la virulence a été modifiée par l'immersion dans la glycérine, peut-être en raison de la réaction ou de l'impureté du liquide.

2. Ces dernières expériences ont été réalisées sur notre demande par M. Viala, préparateur à l'Institut Pasteur de Paris; nous sommes heureux de remercier ici notre habile collaborateur.

rapidité, puisque la suppression de ce temps ne modifie pas sensiblement l'évolution. La marche des accidents n'est pas modifiée non plus par le dépôt direct du virus dans le cerveau. Parfois seulement, les troubles cérébraux apparaissent d'emblée ; l'animal est somnolent, hébété ; la tête est oscillante ou appuyée par le front contre la paroi de la cage ; la paralysie atteint ensuite les membres antérieurs pour gagner d'avant en arrière. En quelques cas, ce sont les membres antérieurs qui sont atteints d'emblée. Le plus souvent, le premier symptôme consiste en de la parésie du train postérieur, suivie d'une paraplégie incomplète et d'un envahissement d'arrière en avant. La physiologie de la maladie ne diffère en rien de ce que l'on observe à la suite d'un dépôt du virus dans l'œil ou sous la dure-mère.

Ainsi, au point de vue expérimental, la méthode de l'inoculation intra-cérébrale permet d'obtenir très rapidement l'exacerbation de la virulence ; après une dizaine de passages, la période de l'incubation peut être réduite à sept jours seulement.

Le procédé est recommandable d'autre part en raison de la simplicité de la technique. L'inoculation sous la dure-mère constitue une opération délicate. L'inoculation dans l'œil n'est point d'une absolue fidélité et l'incubation se prolonge parfois au delà du trentième jour. L'inoculation intra-cérébrale nous semble constituer la méthode de choix pour les inoculations faites dans un but diagnostique.

Il est exceptionnel que les animaux d'épreuve présentent quelque accident après l'inoculation, dans le cerveau, d'une dilution de substance nerveuse fraîche, recueillie et préparée avec les précautions usuelles d'asepsie. Au cours de nos expériences, nous avons perdu trois lapins seulement ; l'un à la suite d'une hémorragie dans les méninges, les deux autres après suppuration dans le cerveau.

Les Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur

EN 1898

PAR LE D^r HENRI POTTEVIN.

I

Pendant l'année 1898, 1,463 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur : 4 sont mortes de la rage ; chez l'une d'elles, la mort est survenue 10 jours après la fin du traitement¹. Deux personnes ont été prises de rage au cours du traitement, elles ne sont pas comptées parmi les traitées.

La statistique s'établit donc ainsi :

| | |
|-------------------------|-------|
| Personnes traitées..... | 1,463 |
| Morts..... | 3 |
| Mortalité 0/0..... | 0,20 |

Dans le tableau suivant, ces chiffres sont rapprochés de ceux fournis par les statistiques des années précédentes.

| Années. | Personnes traitées. | Morts. | Mortalité 0/0. |
|-----------|---------------------|--------|----------------|
| 1886..... | 2671 | 23 | 0,94 |
| 1887..... | 1770 | 14 | 0,79 |
| 1888..... | 1622 | 9 | 0,55 |
| 1889..... | 1830 | 7 | 0,38 |
| 1890..... | 1540 | 5 | 0,32 |
| 1891..... | 1859 | 4 | 0,25 |
| 1892..... | 1790 | 4 | 0,22 |
| 1893..... | 1648 | 6 | 0,36 |
| 1894..... | 1387 | 7 | 0,50 |
| 1895..... | 1520 | 5 | 0,33 |
| 1896..... | 1308 | 4 | 0,30 |
| 1897..... | 1521 | 6 | 0,39 |
| 1898..... | 1463 | 3 | 0,20 |

1. D'après les expériences faites sur les chiens, on est autorisé à penser que les centres nerveux des personnes mortes de rage dans les 15 jours qui suivent le traitement ont été envahis par le virus rabique avant que le traitement ait pu avoir toute son efficacité.

II

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1898.

| | MORSURES A LA TÊTE | | | MORSURES AUX MAINS | | | MORSURES AUX MEMBRES | | | TOTAUX | | |
|------------|--------------------|--------|------------|--------------------|--------|------------|----------------------|--------|------------|----------|--------|------------|
| | Traités. | Morts. | Mortalité. | Traités. | Morts. | Mortalité. | Traités. | Morts. | Mortalité. | Traités. | Morts. | Mortalité. |
| Tableau A. | 11 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 30 | 0 | 0 | 141 | 0 | 0 |
| Tableau B. | 80 | 0 | 0 | 549 | 0,18 | 226 | 0 | 0 | 835 | 1 | 0,11 | |
| Tableau C. | 41 | 0 | 0 | 265 | 0,37 | 163 | 1 | 0,61 | 469 | 2 | 0,42 | |
| | 132 | 0 | 0 | 914 | 0,22 | 419 | 1 | 0,24 | 1465 | 3 | 0,20 | |

III

Au point de vue de leur nationalité, les 1,465 personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

| | | | |
|---------------------------------------|----|----------------------|----|
| Angleterre..... | 25 | Hollande..... | 1 |
| Belgique..... | 21 | Indes anglaises..... | 56 |
| Egypte..... | 2 | Siam..... | 1 |
| Espagne..... | 1 | Suisse..... | 21 |
| Grèce..... | 3 | Turquie..... | 1 |
| Soit 132 étrangers et 1,353 français. | | | |

Voici la répartition par départements des 1,353 Français :

| | | | |
|------------------------|----|-----------------------|----|
| Ain..... | 40 | Ardèche..... | 2 |
| Aisne..... | 0 | Ardennes..... | 0 |
| Allier..... | 4 | Ariège..... | 0 |
| Alpes (Basses-)..... | 0 | Aube..... | 0 |
| Alpes (Hautes-)..... | 0 | Aude..... | 0 |
| Alpes (Maritimes)..... | 0 | Aveyron..... | 13 |
| Alger..... | 0 | Bouches-du-Rhône..... | 10 |

| | | | |
|--------------------------|----|--------------------------|-----|
| Calvados | 4 | Marne (Haute-)..... | 0 |
| Cantal..... | 24 | Mayenne..... | 2 |
| Charente..... | 15 | Meurthe-et-Moselle..... | 3 |
| Charente-Inférieure..... | 9 | Meuse..... | 1 |
| Cher..... | 4 | Morbihan..... | 7 |
| Constantine..... | 0 | Nièvre..... | 4 |
| Corrèze..... | 15 | Nord..... | 1 |
| Corse..... | 0 | Oise..... | 7 |
| Côte-d'Or..... | 0 | Oran..... | 1 |
| Côtes-du-Nord..... | 10 | Orne..... | 6 |
| Creuse..... | 1 | Pas-de-Calais..... | 1 |
| Dordogne..... | 44 | Puy-de-Dôme..... | 13 |
| Doubs..... | 0 | Pyrénées (Basses-)..... | 18 |
| Drôme..... | 0 | Pyrénées (Hautes-)..... | 20 |
| Eure..... | 4 | Pyrénées-Orientales..... | 0 |
| Eure-et-Loir..... | 7 | Rhin (Haut-)..... | 1 |
| Finistère..... | 15 | Rhône..... | 113 |
| Gard..... | 0 | Saône (Haute-)..... | 2 |
| Garonne (Haute-)..... | 30 | Saône-et-Loire..... | 2 |
| Gers..... | 16 | Sarthe..... | 3 |
| Gironde..... | 26 | Savoie..... | 9 |
| Hérault..... | 1 | Savoie (Haute-)..... | 12 |
| Ile-et-Vilaine..... | 9 | Seine..... | 502 |
| Indre..... | 0 | Seine-et-Marne..... | 9 |
| Indre-et-Loire..... | 6 | Seine-et-Oise..... | 63 |
| Isère..... | 36 | Seine-Inférieure..... | 12 |
| Jura..... | 2 | Sèvres (Deux-)..... | 4 |
| Landes..... | 15 | Somme..... | 3 |
| Loir-et-Cher..... | 1 | Tarn..... | 24 |
| Loire..... | 42 | Tarn-et-Garonne..... | 18 |
| Loire (Haute-)..... | 7 | Var..... | 0 |
| Loire-Inférieure..... | 8 | Vaucluse..... | 0 |
| Loiret..... | 1 | Vendée..... | 4 |
| Lot..... | 18 | Vienne..... | 9 |
| Lot-et-Garonne..... | 37 | Vienne (Haute-)..... | 1 |
| Lozère..... | 0 | Vosges..... | 1 |
| Maine-et-Loire..... | 4 | Yonne..... | 0 |
| Manche..... | 5 | Madagascar..... | 1 |
| Marne..... | 1 | | |

PERSONNES TRAITÉES, MORTES DE LA RAGE

HURSAINT Louis, 39 ans, agent de police à Saint-Germain (Seine-et-Oise), mordu le 19 mars au poignet droit par un chien errant qui, abattu aussitôt, fut déclaré enragé après autopsie par M. Simonnet, médecin-vétérinaire à Saint-Germain. Les blessures, au nombre de trois, étaient profondes et n'avaient pas été cautérisées.

Hursaint a été traité à l'Institut Pasteur du 20 mars au 6 avril : les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 7 mai ; il est mort le 10 mai.

HESTEAU Henri, 68 ans, tourneur à la Rochelle, mordu le 24 avril à la face dorsale de la main droite par un chien que M. Besnard, médecin-vétérinaire à la Rochelle, avait déclaré « fortement suspect de rage ».

La morsure n'avait pas été cautérisée, le traitement antirabique a été appliqué du 27 avril au 14 mai; les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 2 septembre, la mort est survenue le 4 septembre.

Le docteur Boutiron, médecin à Saint-Xandre (Charente-Inférieure), qui a soigné Hesteau, pense que la cause déterminante immédiate de l'éclosion de la rage a dû être un surmenage physique, le malade ayant fait quelques jours avant « des marches très exagérées pour son âge et sa constitution ».

O'LEARY Albert, 22 ans, employé au département des travaux militaires à Lahore (Indes anglaises), mordu le 22 août à la face antéro-externe de la cuisse droite, par un chien errant qui ne put être retrouvé. Les morsures, au nombre de trois, avaient été faites au travers d'un pantalon qu'elles avaient déchiré; elles avaient été cautérisées au nitrate d'argent au bout de 40 minutes.

O'Leary a été traité à l'Institut Pasteur du 12 septembre au 26 octobre, il est mort de la rage à Mian-Mir (Indes anglaises) le 22 novembre; son cas a donné lieu à certaines polémiques. Un journal anglais des Indes, *The Englishman*, a publié une dépêche d'après laquelle le chien qui avait mordu O'Leary serait encore vivant et en parfaite santé; ce fait nous a été signalé par un rapport de M. le consul général de France à Calcutta, que M. le ministre des Affaires étrangères a bien voulu nous communiquer; nous avons procédé à une enquête; et nous donnons ci-dessous un extrait d'une lettre qui nous a été adressée des Indes le 20 avril dernier par le frère de O'Leary; il met les choses au point : « Vous me demandez des renseignements sur le chien qui a mordu mon frère, on n'a pas retrouvé sa trace et aucun vétérinaire n'a pu l'examiner; à part mon pauvre frère, personne n'a vu ce chien, on n'a donc aucune preuve qu'il fût malade; mais en même temps que mon frère, il a mordu un petit chien à nous, celui-ci était encore vivant quand mon frère est mort, depuis on l'a abattu. »

PERSONNES PRISES DE RAGE AU COURS DU TRAITEMENT

LERANG, Jean-Marie, 48 ans, chanteur ambulant, mordu le 27 janvier à Villefranche (Rhône), par un chien que M. Raymond, médecin-vétérinaire à Villefranche, avait déclaré enragé après autopsie; les morsures, au nombre de treize, étaient situées sur le nez, huit

sur la face dorsale de la main droite, quatre sur la face dorsale de la main gauche; elles n'avaient pas été cautérisées.

Lerang a été traité à l'Institut Pasteur à partir du 4 février, son traitement devait durer 21 jours. Le 20 février, il se plaint de n'avoir pas d'appétit, de ne pas dormir; le 21, il éprouve de violentes douleurs dans la tête et le thorax, et les symptômes caractéristiques de la rage se manifestent (aérophobie, spasmes typiques); il est mort à l'hôpital Necker le 22 février.

Trois autres personnes mordues par le même chien et traitées à l'Institut Pasteur sont actuellement en parfaite santé.

MAC-QUILLAN, Terance, 3 ans, de Castel-Blarney (Irlande), mordu le 10 août par un chien que la mère de l'enfant nous déclare avoir été reconnu enragé par un vétérinaire.

Une première morsure longue de 8 centimètres environ s'étend depuis la partie médiane du front jusqu'au-dessus de l'oreille gauche, les bords sont réunis par six points de suture. Quand l'enfant se présente à l'Institut Pasteur, le 14 août, elle est en mauvais état.

Une deuxième morsure très pénétrante est située au-dessous de l'os malaire gauche.

Ces blessures avaient été cautérisées au bout de 1/2 heure avec un caustique?

Le jeune Mac-Quillan a été traité à l'Institut Pasteur à partir du 14 août, son traitement devait durer 21 jours; le 29 août, il manifesta des symptômes rabiques, il mourut à l'hôpital des Enfants-Malades le 31 août.

MALADE PRIS DE RAGE MOINS DE QUINZE JOURS APRÈS LA FIN DU TRAITEMENT

MAC-QUILLAN, John, 7 ans, de Castel-Blarney (Irlande), mordu le 10 août par le même chien que son frère (voir plus haut).

Le détail des morsures était .

1^o Au-dessus de l'arcade sourcilière droite, une morsure linéaire, longue de deux cent.; les bords sont retenus par deux points de suture;

2^o Joue droite, au-dessous de l'os malaire, une morsure pénétrante;

3^o Sur la périphérie du 1/3 inférieur de l'avant-bras droit, trois morsures très pénétrantes, faites sur le membre nu;

4^o Sur les troisièmes phalanges des quatre derniers doigts de la main droite, cinq morsures pénétrantes.

Toutes ces blessures avaient été cautérisées au bout de 1/2 heure avec un caustique? Quand l'enfant arriva à l'Institut Pasteur, elles étaient en mauvais état.

Le traitement antirabique a été appliqué du 14 août au 3 septembre, l'enfant est mort de la rage le 13 septembre.

SUR L'AMYLASE

PAR M. YVON¹

Les procédés de préparation industrielle de l'amylase destinée aux usages thérapeutiques, les plus employés aujourd'hui, sont celui de Lintner et celui du Codex; ils reposent sur les mêmes principes et ne diffèrent que par les détails de manipulation. La pharmacopée française fait broyer au moulin de l'orge germé desséché à 50°; on le laisse en contact pendant 5 ou 6 heures avec 2 parties d'eau froide en agitant de temps en temps; on passe avec expression, on filtre, et on ajoute à la liqueur 2 fois son volume d'alcool à 95 centièmes. Le précipité est recueilli sur un filtre, étalé en couches minces sur des lames de verre, puis desséché rapidement dans un courant d'air à une température qui ne doit pas dépasser 45 degrés.

Lintner conseille d'employer le malt vert, finement moulu: on le laisse en contact pendant 24 heures avec 2 à 4 fois son poids d'alcool à 20 centièmes, puis, après filtration, on mélange le liquide avec 2 fois à 2 fois 1/2 son volume d'alcool absolu. Le précipité d'amylase est lavé d'abord avec de l'alcool absolu, puis avec de l'éther, et, finalement, desséché dans le vide.

Chacun de ces procédés présente des avantages et des inconvénients. Celui du Codex est plus simple en ce sens qu'il ne nécessite ni l'emploi du vide ni lavage à l'alcool absolu et à l'éther. Le rendement en amylase est assez élevé, comme nous le verrons plus loin; mais le pouvoir diastasique est plus faible que celui de l'amylase obtenue par le procédé de Lintner. En effet, l'amylase en solution aqueuse s'altère assez rapidement, de là l'obligation de ne pas prolonger la macération plus de 5 ou 6 heures; d'autre part, l'eau pure ne dissout pas seulement l'amylase, mais en outre une notable proportion des autres matières solubles qui existent dans le malt; le soluté est un peu visqueux, et pratiquement la filtration au papier n'est pas possible. Comme il faut opérer rapidement, on passe sur un linge

1. Ce travail a été fait au laboratoire de M. Duclaux, à l'Institut Pasteur.

fin : le liquide recueilli est alors plus ou moins trouble et tient en suspension des grains de matière amylacée. Lors du traitement par l'alcool, cet amidon se précipite en même temps que les autres matières extractives et l'amylase. Toutes ces matières étrangères divisent le précipité et permettent de le dessécher assez rapidement dans un courant d'air, mais en même temps qu'elles accroissent le rendement, elles diminuent l'activité proportionnelle du ferment.

Dans le procédé de Lintner, la présence de l'alcool empêche en assez grande partie la solution des principes extractifs autres que l'amylase, et prévient en même temps l'altération trop rapide de ce ferment : on peut donc prolonger la macération pendant 24 heures; le liquide filtre plus facilement, et il est facile de l'obtenir limpide et privé de grains d'amidon : l'amylase précipitée par l'alcool sera donc mélangée d'une proportion moindre de matières étrangères; le lavage à l'alcool, puis à l'éther la déshydratent, et l'action du vide permet de la dessécher rapidement, condition indispensable pour obtenir un produit actif. Le procédé de Lintner fournit une amylase très active; mais le rendement est assez faible; enfin l'emploi du vide ne le rend pas applicable dans tous les laboratoires.

Ces considérations m'ont conduit à emprunter à chaque procédé ce qu'il présentait d'avantageux, et à adopter un mode de préparation qui permet d'obtenir facilement un produit actif et avec un rendement très satisfaisant. Le pouvoir diastasique de l'amylase sera d'autant plus élevé qu'elle sera restée moins longtemps en solution aqueuse, que son contact avec l'alcool très concentré sera plus court, et que la dessiccation aura été plus rapide. Voici comment j'ai concilié toutes ces conditions :

J'ai fait choix du malt touraillé que l'on peut se procurer en tout temps. Depuis que la fabrication des bières blondes se fait sur une vaste échelle, le malt qui sert à leur préparation est touraillé à une température assez basse, l'amylase n'est altérée qu'en faible proportion, et le rendement est très satisfaisant.

D'autre part, le liquide hydro-alcoolique provenant du malt touraillé filtre bien plus facilement que celui obtenu avec le malt vert. J'ai réduit au minimum la quantité de liquide employé pour épuiser la poudre de malt, de manière à diminuer dans les mêmes proportions celle de l'alcool employé pour la précipita-

tion. Au lieu d'alcool absolu, j'emploie l'alcool à 97 centièmes, que les appareils distillatoires actuels permettent d'obtenir facilement du premier jet.

Voici le mode opératoire que j'ai adopté :

250 grammes de malt touraillé finement moulu sont placés dans un bocal que l'on peut boucher, et mélangés avec 2 fois leur poids, soit 500 grammes d'alcool à 20 centièmes. On laisse macérer pendant 24 heures en agitant fréquemment : on jette alors le mélange sur un filtre et l'on essore à la trompe ; si l'opération est bien conduite¹, on recueille environ 75 0/0, soit 375 grammes de liquide ; on verse alors sur le malt de l'alcool à 20 centièmes et l'on continue à faire fonctionner la trompe jusqu'à ce que l'on ait recueilli une quantité suffisante de liquide (environ 125 grammes) pour compléter les 500 grammes. En opérant de cette manière on obtient la presque totalité de l'amylase dissoute, et le soluté est *absolument limpide*.

On le place dans un flacon d'une capacité d'environ 2 litres dans lequel on verse de l'alcool à 97 centièmes de manière à précipiter l'amylase. La quantité d'alcool que l'on doit employer varie de 2 fois à 2 fois et demi le volume de la solution diastase, soit dans le cas présent de 1 litre à 1 litre 1/4. Il est impossible de fixer exactement la proportion ; il faut, en effet, et c'est là le *tour de main* indispensable, que l'alcool soit ajouté en quantité suffisante pour que l'amylase précipitée se rassemble rapidement (5 à 6 minutes au plus) au fond du flacon où elle forme une couche assez dense. On décante alors le liquide avec un siphon percé d'une ouverture *latérale*, et l'on ne doit pas conserver beaucoup plus de 100 c. c. du mélange tenant en suspension l'amylase précipitée.

On transvase alors dans un petit flacon à large ouverture, on ajoute la moitié du volume, soit environ 50 c. c. d'éther sulfurique $D = 0,722$, et l'on mélange en renversant plusieurs fois le flacon sans agiter. Le précipité d'amylase se rétracte instantanément et tombe au fond du flacon, on peut décanter la presque totalité du mélange éthéro-alcoolique ; on jette alors le précipité d'amylase sur un linge fin, on exprime par torsion et l'on fait dessécher dans une étuve chauffée à

1. Pour cette opération, on se sert avec avantage d'entonnoirs cylindriques en porcelaine spécialement fabriqués pour ce genre d'opération.

38 degrés. La préparation de l'amylase, depuis le moment où l'on ajoute l'alcool au macéré de malt jusqu'à celui où l'on porte à l'étuve le précipité, ne doit pas exiger plus de 20 à 25 minutes.

On obtient ainsi de 13,4 à 17,60 pour 1,000, soit en moyenne 15,5 0/00 d'une matière blanche, dont la surface seule jaunit pendant la dessiccation; elle est très soluble dans l'eau froide, et renferme de 7,40 à 7,52 millièmes de cendres.

En suivant le procédé du Codex, et en filtrant le macéré aqueux sur un linge fin, le rendement en amylase s'élève à 27/1000 en moyenne, la proportion de cendres est de 8/1000 : ce chiffre est sensiblement égal à celui indiqué plus haut; les impuretés sont en effet de nature organique.

J'ai comparé l'énergie diastasique de l'amylase obtenue par ces deux procédés. J'ai fait choix de la fécule de pomme de terre : pour obtenir des résultats aussi comparables que possible entre eux, il faut non seulement opérer avec la même fécule, mais encore la laver et la dessécher avec précaution. Pour cela on laisse la fécule du commerce en contact pendant 24 heures avec 4 fois son poids d'alcool à 20 centièmes, en agitant de temps en temps; on décante et on lave la fécule avec de l'eau distillée bien pure, jusqu'à ce que cette eau passe incolore, n'exerce plus de réaction sur le papier de tournesol et ne laisse plus de résidus à l'évaporation. On essore à la trompe et l'on fait dessécher dans une étuve dont la température ne doit pas dépasser 38 degrés. Dans ces conditions, la fécule retient 8,656/100 d'eau.

Avec de la fécule ainsi *lavée et desséchée* et de l'eau distillée ¹, j'ai préparé de l'empois à 5/100, et sur cet empois j'ai fait agir pendant *une heure* l'amylase à une température fixe de 60 degrés. Cette température est sensiblement celle à laquelle l'amylase présente son maximum d'activité. Dans ces conditions, l'opération n'exige pas un temps aussi considérable que celui fixé par le Codex et la quantité de maltose produite est cependant élevée.

Les résultats de nombreux essais sont réunis dans le tableau suivant : les chiffres donnés se rapportent à la fécule supposée *entièrement privée d'eau*.

Si on voulait faire une comparaison exacte des activités de l'amylase fournie par les deux méthodes, il faudrait, comme l'a

1. L'eau distillée ne doit exercer aucune action sur le papier de tournesol ou sur la phatléine de phénol.

L'AMYLASE AGIT PENDANT 1 HEURE SUR LA FÉCULE LAVÉE (EMPOIS A 5 0/0) A LA TEMPÉRATURE DE 60°. — LIQUEUR DE FEHLING NORMALE ÉTENDUE DE 2 FOIS SON VOLUME D'EAU. — POUVOIR RÉDUCTEUR DE LA MALTOSE 63 0/0

SUR L'AMYLASE.

| SÉRIE | FÉCULE | | EAU | AMYLASE EN CENTIGRAMMES | RAPPORT DE L'AMYLASE A LA FÉCULE | Proportion pour 100 de fécula sèche saccharifiée. | | | | L'Amylase saccharifiée N fois son poids de fécula sèche. | | | | VOLUME de Liquor de Fehling decolorée | |
|-------|--------------|---------------|--------|----------------------------|--|---|-------|-----------------|-------|--|-------|-----------------|-------|--|---------------------|
| | Séchée à 28. | Séchée à 105. | gr. | c. c. | | PROCÉDÉ DU CODEX | | PROCÉDÉ PROPOSÉ | | PROCÉDÉ DU CODEX | | PROCÉDÉ PROPOSÉ | | Procédé du Codex. | Procédé proposé. |
| 5 | 5 | 5 | 4,567 | 100 | 1 100 | 70,64 | 44,43 | 76,53 | 15,23 | 322,6 | 64,5 | 349,5 | 69,9 | 4,29 | 4,65 |
| 4 | 5 | 5 | 4,567 | 100 | 1 125 | 70,64 | 17,56 | 76,53 | 19,03 | 322,6 | 80,6 | 349,5 | 87,37 | 4,29 | 4,65 |
| 3 | 5 | 5 | 4,567 | 100 | 1 166 | 70,64 | 23,35 | 73,44 | 24,81 | 322,6 | 107,5 | 335,4 | 111,8 | 4,29 | 4,46 |
| 2 | 5 | 5 | 4,567 | 100 | 1 250 | 68,30 | 34,15 | 72,25 | 36,13 | 310,6 | 155,3 | 330 | 165 | 4,43 | 4,37 |
| 1 | 5 | 5 | 4,567 | 100 | 1 500 | 49,26 | | 70,65 | | 225 | | 322,6 | | 3,10 | 4,29 |
| 10 | 10 | 10 | 9,134 | 200 | 1 1000 | 32,22 | | 68,02 | | 294,3 | | 621 | | 1,95 | 4,46 |
| 15 | 15 | 15 | 13,702 | 300 | 1 1500 | 25,7 | | 62,94 | | 352,5 | | 863 | | 1,40 | 3,84 |
| 20 | 20 | 20 | 18,269 | 400 | 1 2000 | 22,7 | | 49,64 | | 414,25 | | 907 | | 1,20 | 3,03 |
| 25 | 25 | 25 | 22,836 | 500 | 1 2500 | 14,24 | | 25,87 | | 325 | | 616,8 | | 0,82 | 1,64 |

montré M. Duclaux dans sa microbiologie (t. II), soit comparer les temps nécessaires pour arriver à la même proportion d'amidon saccharifié dans les deux expériences comparatives, soit comparer les quantités de sucre produit dans le même temps au début de l'action, avant que la quantité d'amidon saccharifié ait atteint 8 à 10 0/0 de la quantité totale. On peut se contenter d'une comparaison entre 2 chiffres du tableau convenablement choisis. Ils ne doivent ni correspondre au début de l'action, au moment où elle est très rapide, ni à la fin, au moment où elle est près de se terminer. Les meilleurs, à ce point de vue, sont les nombres de 49, 26 0/0 correspondant à l'amylase du Codex agissant sur 500 fois son poids de fécule, et celui de 49, 64 0/0 fourni par l'amylase de mon procédé agissant sur 2,000 fois son poids de fécule. Le rapport est de 4 à 1. La méthode que je propose fournit donc une amylase environ 4 fois plus active que la méthode du Codex.

La pharmacopée française dit que l'amylase officinale doit transformer en sucre réducteur 50 fois seulement son poids de fécule ou d'amidon, ce que l'on vérifie par l'essai suivant :

10 centigrammes d'amylase sont dissous dans 100 grammes d'empois renfermant 6 grammes de fécule ou d'amidon : on chauffe à 50 degrés au bain-marie pendant six heures ; on doit alors obtenir un liquide fluide, filtrant facilement, et décolorant cinq fois son volume de liqueur de Fehling normale.

L'activité exigée est manifestement trop minime, et le mode d'essai très critiquable. Il paraît préférable de faire agir l'amylase à la température sensiblement optimale, de réduire la durée de l'action et d'adopter le *modus operandi* suivant :

Faire agir un centigramme d'amylase sur 100 grammes d'empois renfermant 5 grammes de fécule préalablement lavée et desséchée à 38°. Cet empois doit être préparé avec de l'eau distillée bien neutre. Le mélange sera maintenu pendant 1 heure au bain-marie chauffé à 60 degrés : au bout de ce temps on doit obtenir un liquide limpide, filtrant facilement et capable de décolorer à l'ébullition 4 fois son volume de liqueur de Fehling normale. Dans ces conditions, l'amylase transformerait en maltose environ 300 fois son poids de fécule.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie E. Charaire.